

Células-tronco e Diferenciação celular

Nathalie Cella

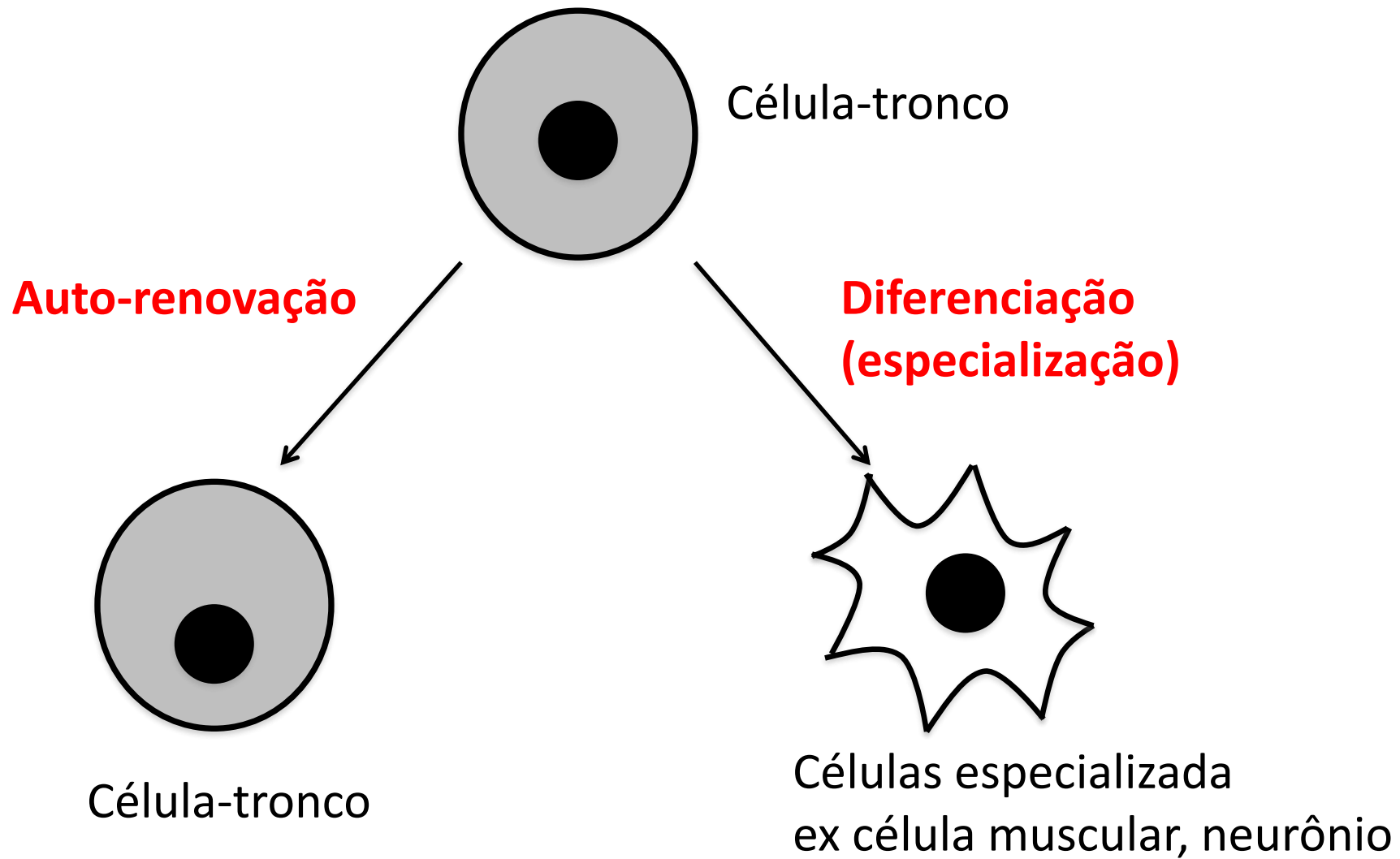
01/07/2021

Departamento de Biologia Celular
e do Desenvolvimento

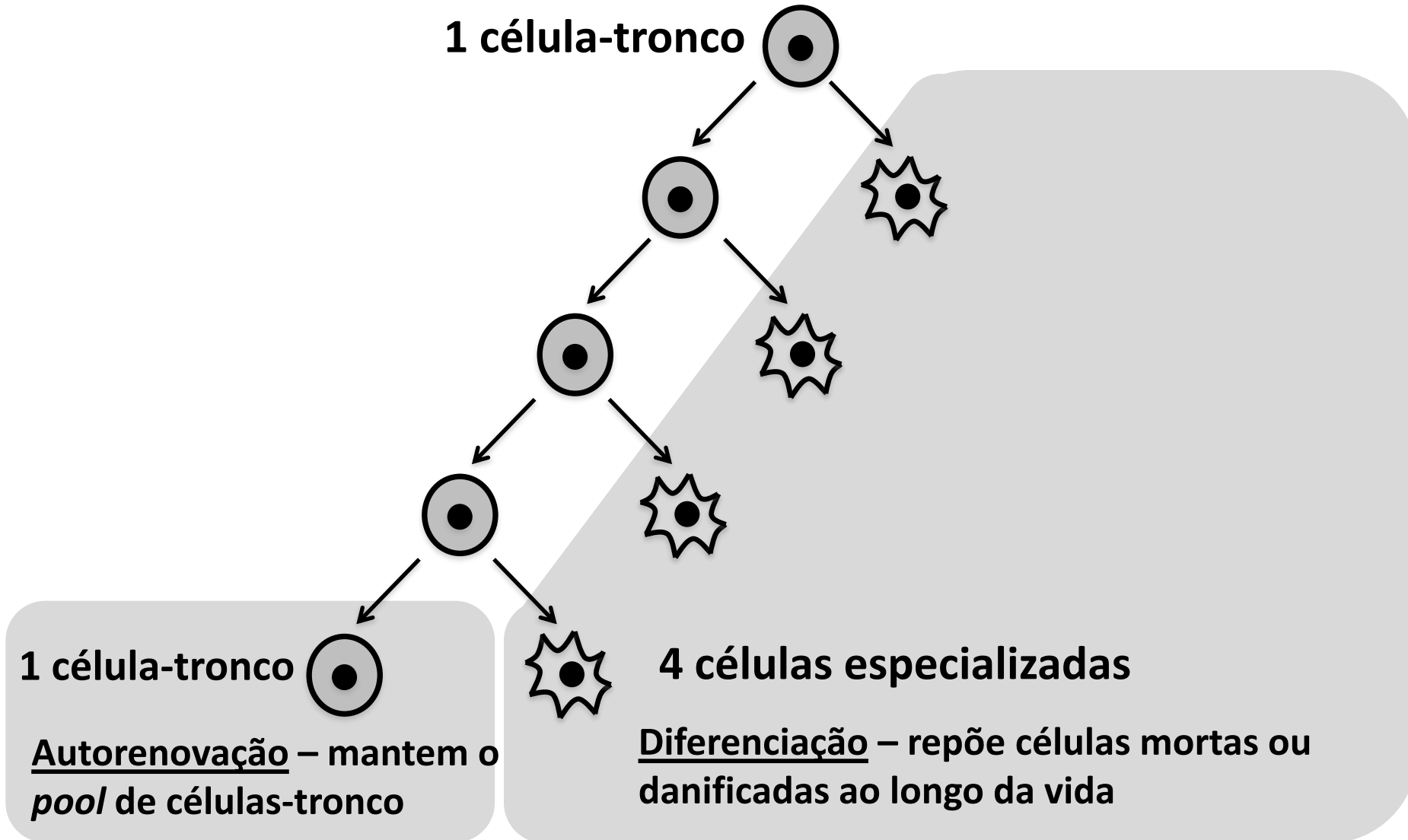
Instituto de Ciências Biomédicas – USP

ncella@usp.br

O que é uma célula-tronco?



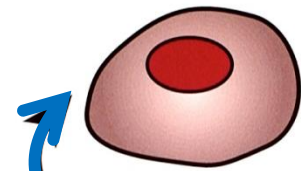
Por que auto-renovação **E** diferenciação?



Hierarquia das Células-Tronco

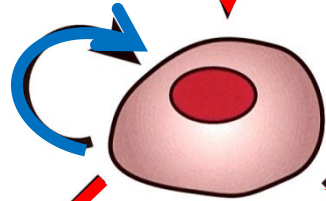
AUTO-RENOVAÇÃO

DIFERENCIAÇÃO



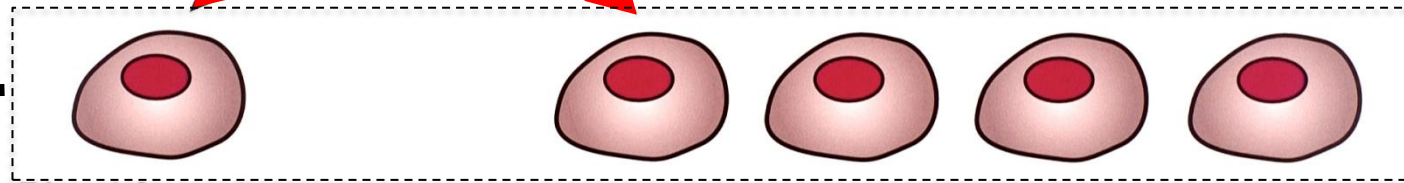
Totipotent

zigoto



Pluripotent

células-tronco embrionárias



células-tronco Multipotentes

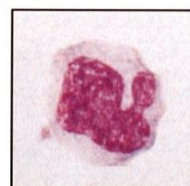
Blood Stem Cells

Other Stem Cells

Células-tronco ADULTAS



Red Blood Cells



White Blood Cells

Muscle

Nerve

Bone

Other Tissues

Há três tipos de células-tronco

- ❑ 1. Células-tronco embrionárias – células retiradas de um embrião no início da embriogênese que são mantidas em laboratório;
- ❑ 2. Células-tronco pluripotentes induzidas ou células tronco “reprogramadas” (iPSCs) – são semelhantes às células-tronco embrionárias. São obtidas de células adultas submetidas a uma técnica descrita em 2006;
- ❑ 3. Células-tronco teciduais (ou células-tronco adultas) Tissue stem cells – são encontradas no nosso corpo durante toda a nossa vida.

Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos

M. J. Evans* & M. H. Kaufman†

Departments of Genetics* and Anatomy†, University of Cambridge, Downing Street, Cambridge CB2 3EH, UK

Pluripotential cells are present in a mouse embryo until at least an early post-implantation stage, as shown by their ability to take part in the formation of chimaeric animals¹ and to form teratocarcinomas². Until now it has not been possible to establish progressively growing cultures of these cells *in vitro*, and cell lines have only been obtained after teratocarcinoma formation *in vivo*. We report here the establishment in tissue culture of pluripotent cell lines which have been isolated directly from *in vitro* cultures of mouse blastocysts. These cells are able to differentiate either *in vitro* or after inoculation into a mouse as a tumour *in vivo*. They have a normal karyotype.

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2007



© The Nobel Foundation. Photo: U. Montan
Mario R. Capecchi
Prize share: 1/3

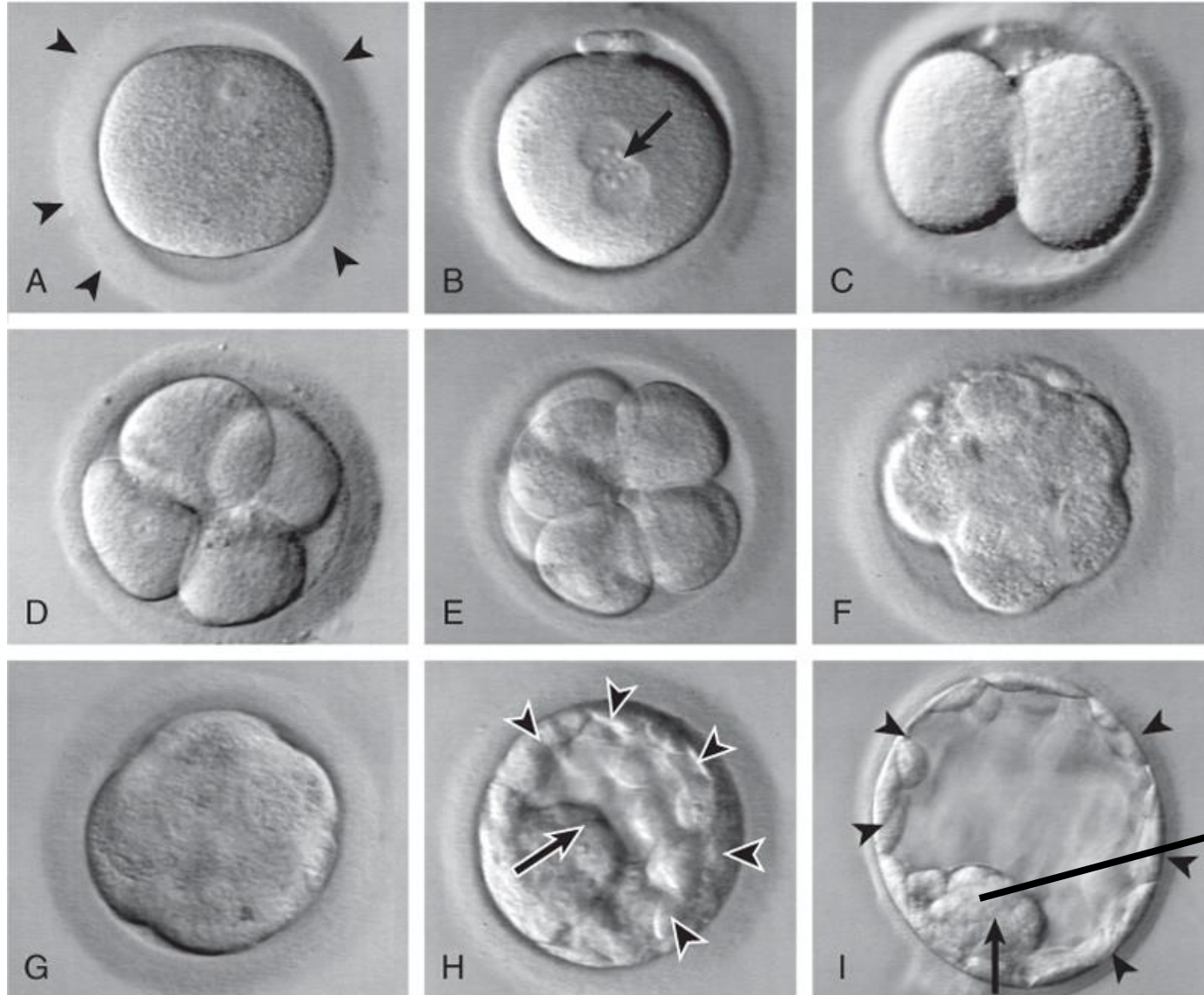


© The Nobel Foundation. Photo: U. Montan
Sir Martin J. Evans
Prize share: 1/3

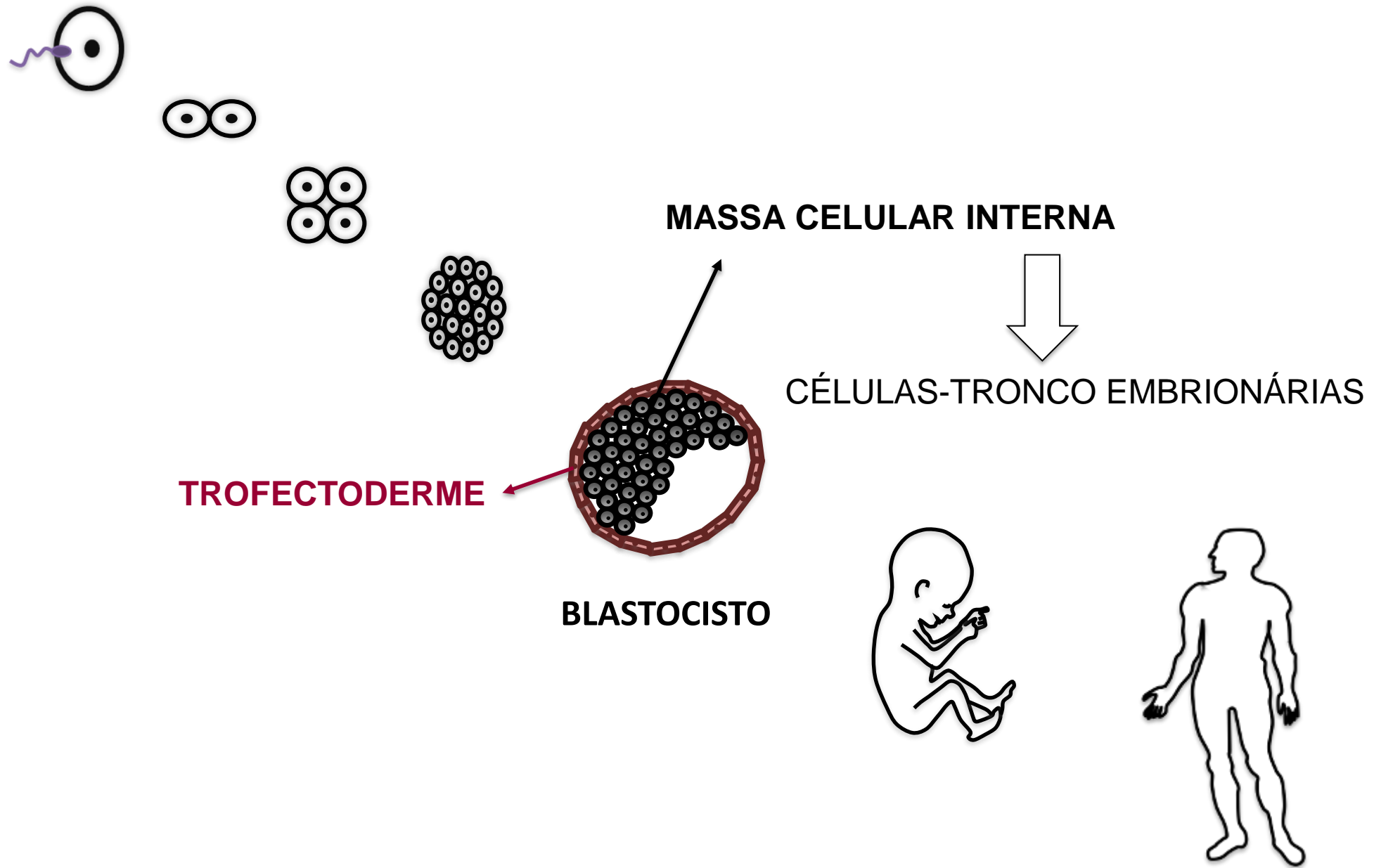


© The Nobel Foundation. Photo: U. Montan
Oliver Smithies
Prize share: 1/3

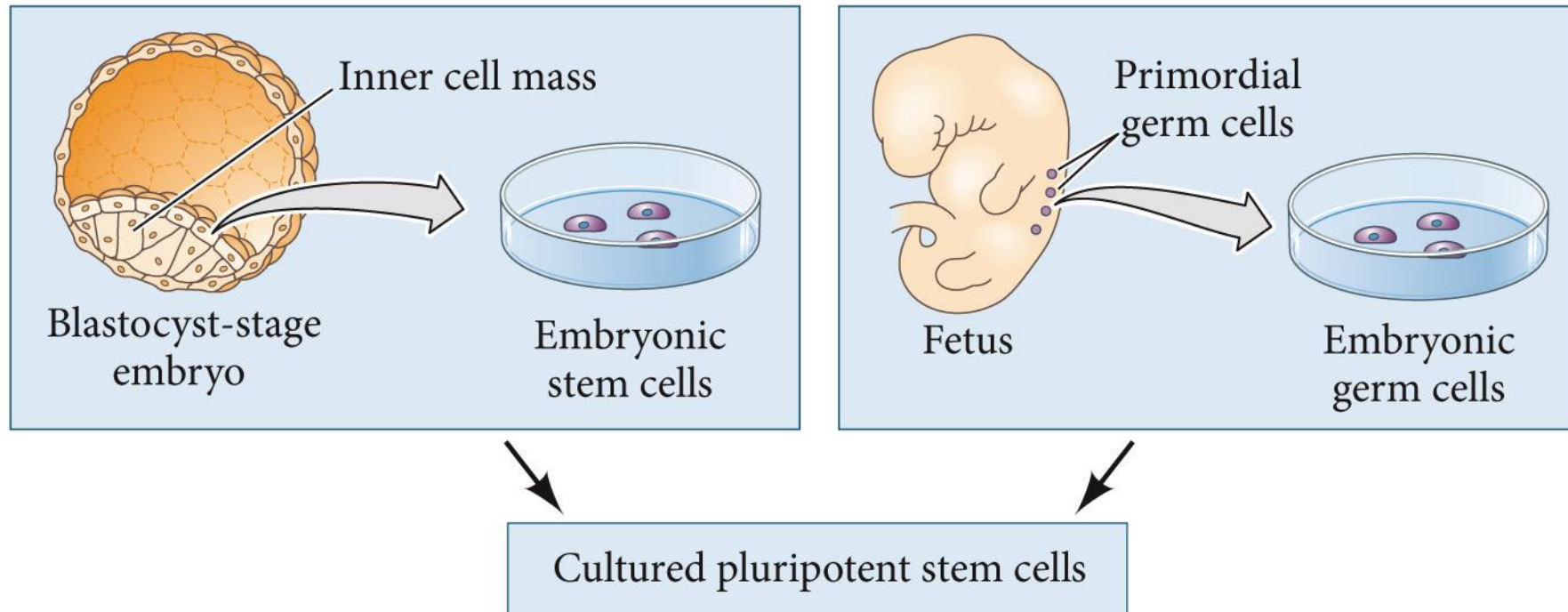
The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2007 was awarded jointly to Mario R. Capecchi, Sir Martin J. Evans and Oliver Smithies "for their discoveries of principles for introducing specific gene modifications in mice by the use of embryonic stem cells."



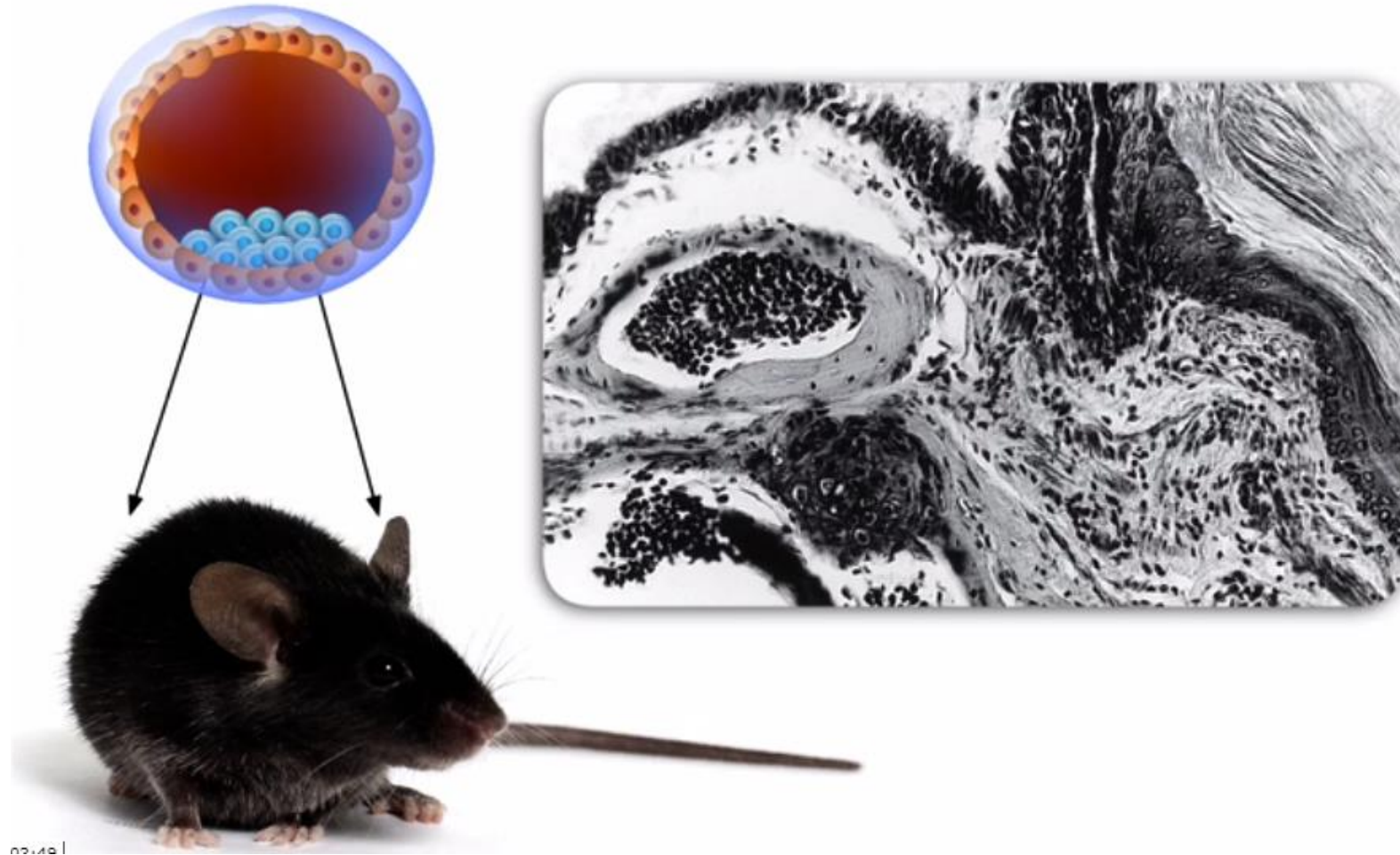
MASSA CELULAR INTERNA



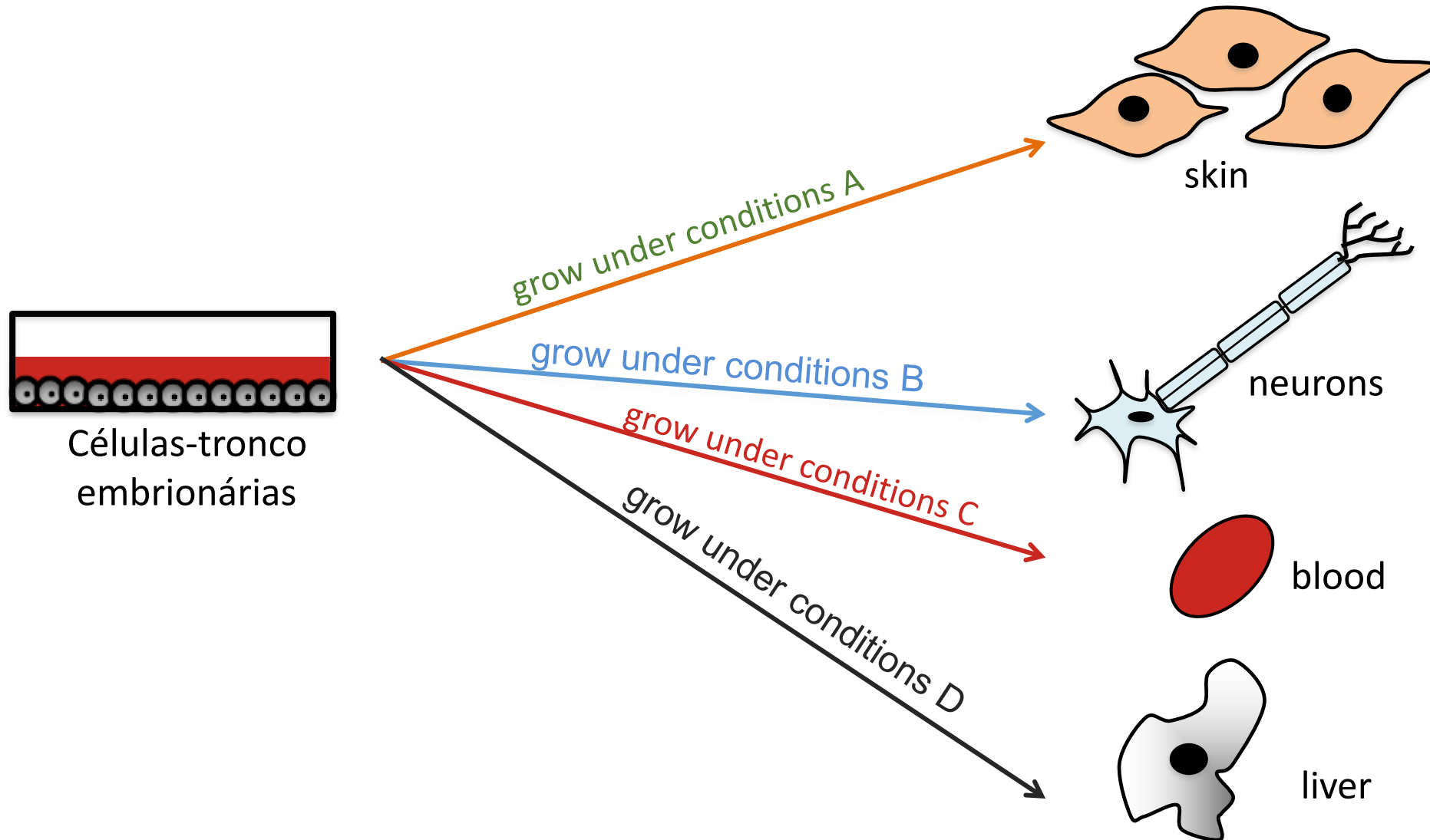
Células-tronco no laboratório



Células-tronco embrionárias dão origem a teratocarcinomas



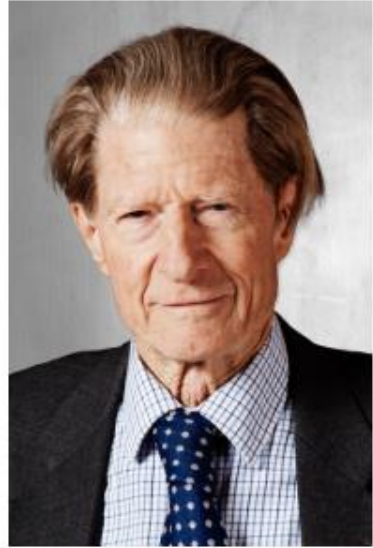
Células-tronco embrionárias



Há três tipos de células-tronco

- 1. Células-tronco embrionárias – células retiradas de um embrião no início da embriogênese que são mantidas em laboratório;
- 2. Células-tronco pluripotentes induzidas ou células tronco “reprogramadas” (iPSCs) – são semelhantes às células-tronco embrionárias. São obtidas de células adultas submetidas a uma técnica descrita em 2006;
- 3. Células-tronco teciduais (ou células-tronco adultas) Tissue stem cells – são encontradas no nosso corpo durante toda a nossa vida.

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2012



© The Nobel Foundation. Photo: U. Montan

Sir John B. Gurdon

Prize share: 1/2



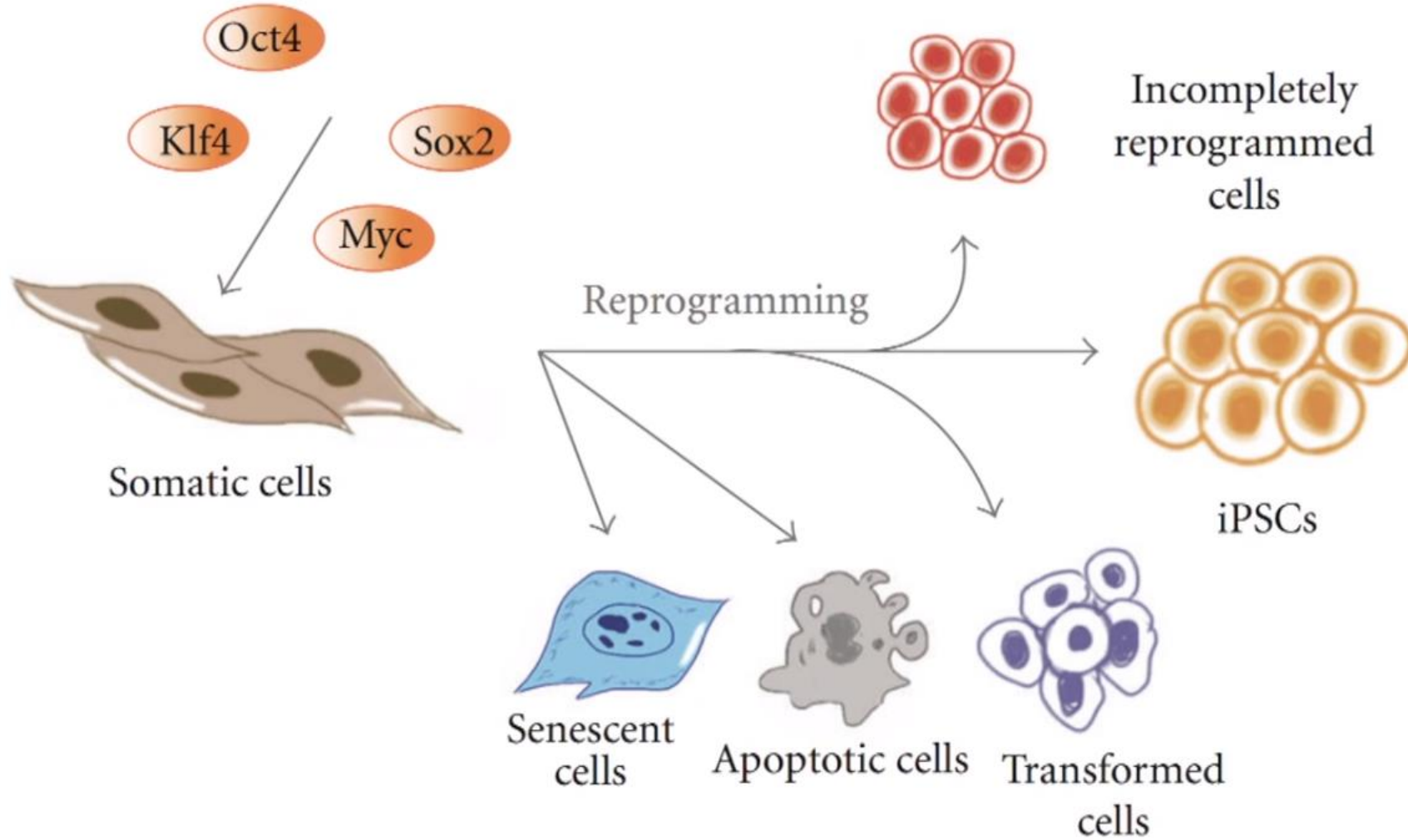
© The Nobel Foundation. Photo: U. Montan

Shinya Yamanaka

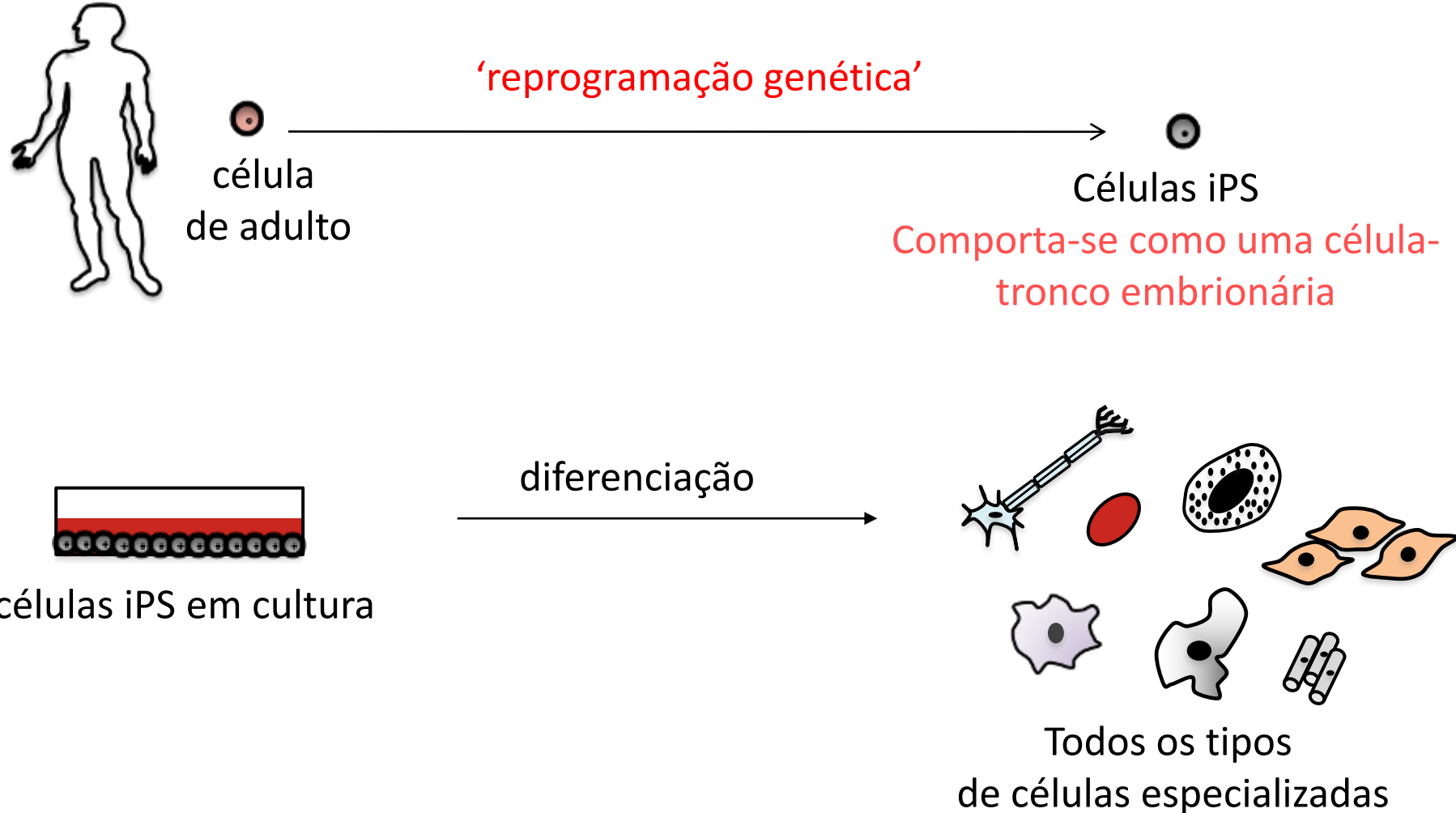
Prize share: 1/2

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2012 was awarded jointly to Sir John B. Gurdon and Shinya Yamanaka "for the discovery that mature cells can be reprogrammed to become pluripotent."

Células-tronco pluripotentes induzidas (iPSC)



Células-tronco pluripotentes induzidas (iPS)



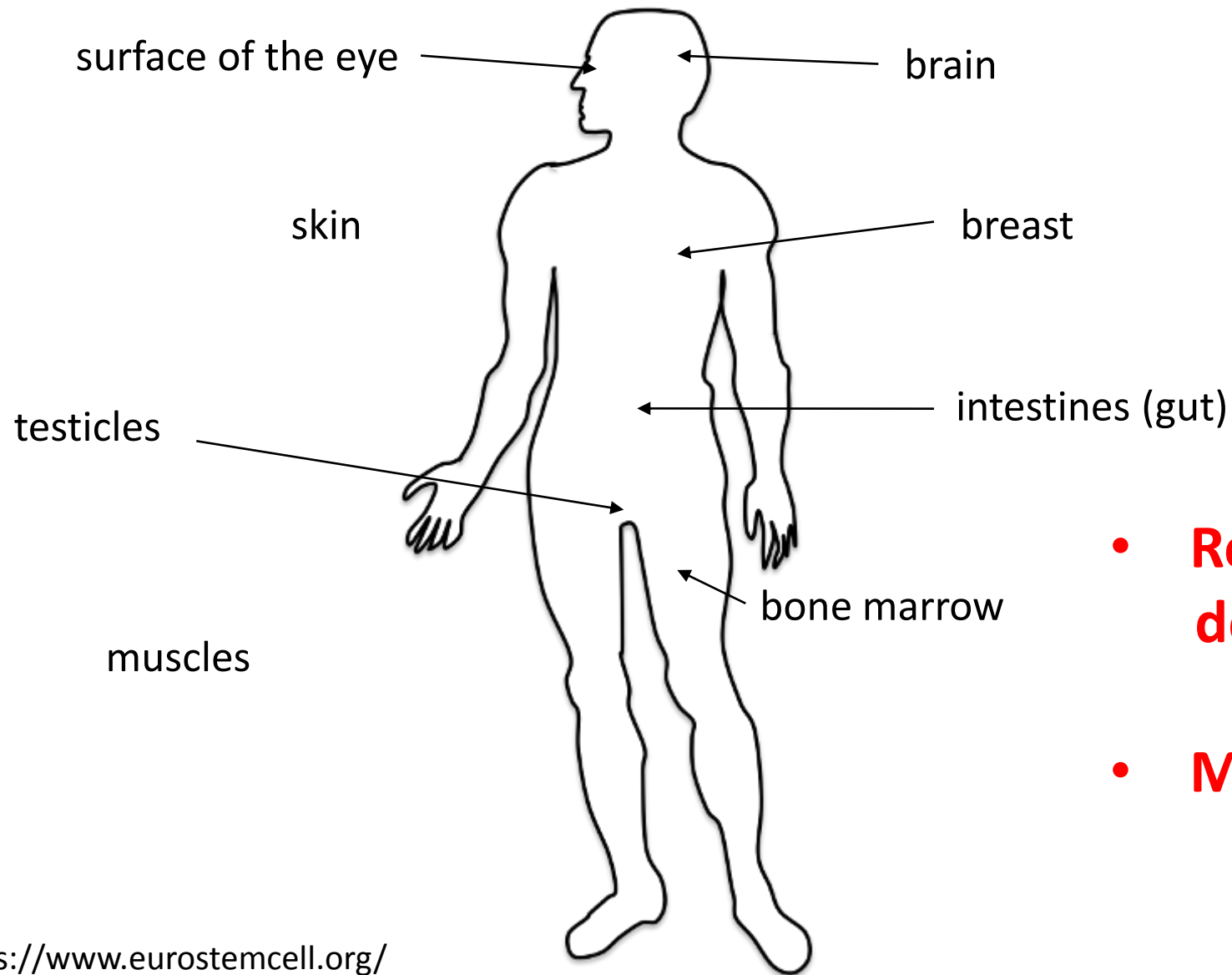
Aplicação e importância das iPSC

1. Gerar iPSC derivadas de células de pacientes para estudar a patologia
2. Utilizar terapia gênica em células iPSC para tratar doenças
3. Gerar células progenitoras a partir de células iPSC derivadas de pacientes para propósito de transplantes, evitando assim a rejeição
4. Utilizar células diferenciadas a partir de iPSC de pacientes para *screening* de drogas

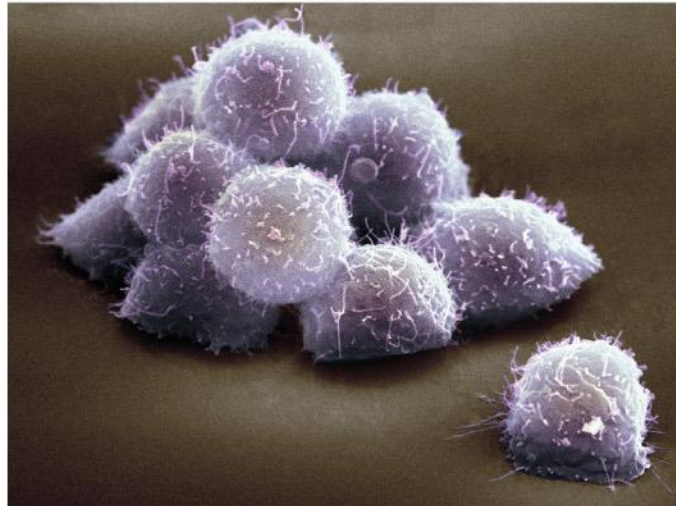
Há três tipos de células-tronco

- 1. Células-tronco embrionárias – células retiradas de um embrião no início da embriogênese que são mantidas em laboratório;
- 2. Células-tronco pluripotentes induzidas ou células tronco “reprogramadas” (iPSCs) – são semelhantes às células-tronco embrionárias. São obtidas de células adultas submetidas a uma técnica descrita em 2006;
- 3. Células-tronco teciduais (ou células-tronco adultas) – são encontradas no nosso corpo durante toda a nossa vida.

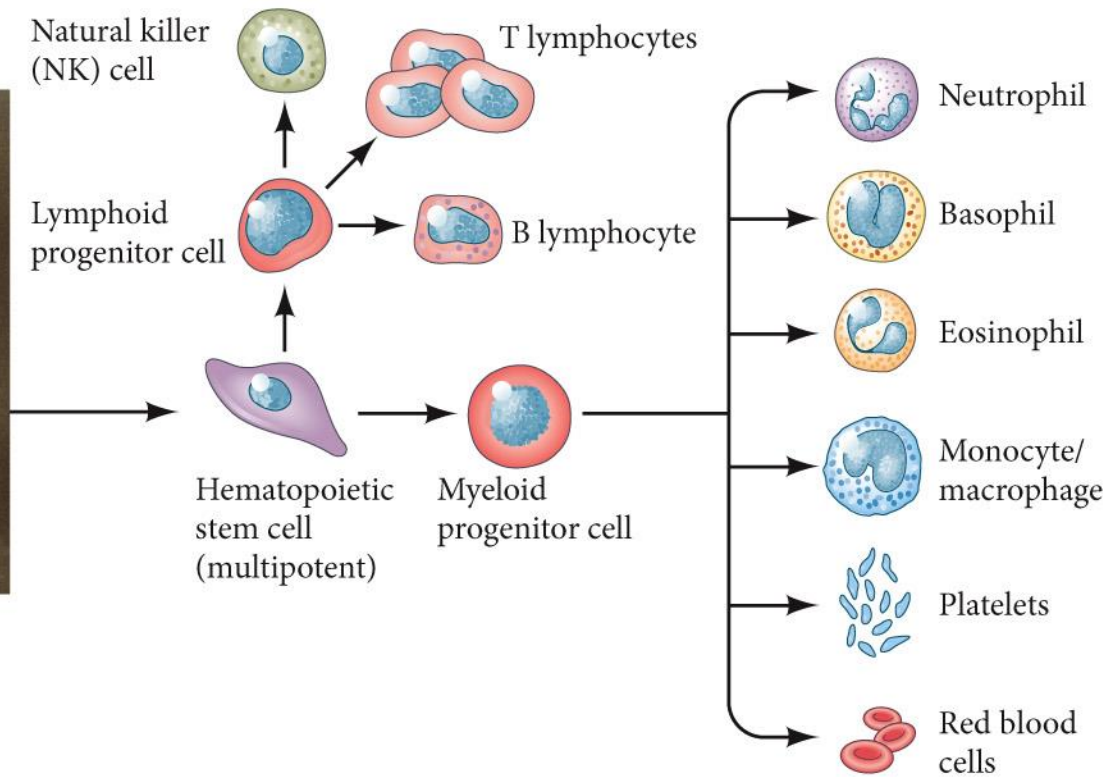
Células-tronco adultas



- **Renovação tecidual pelo desgaste ou injúrias**
- **Manutenção da homeostase**



Hematopoietic stem cells

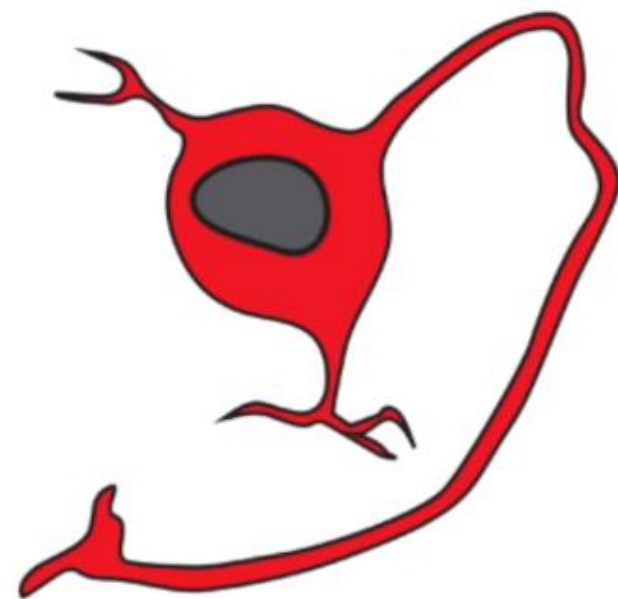
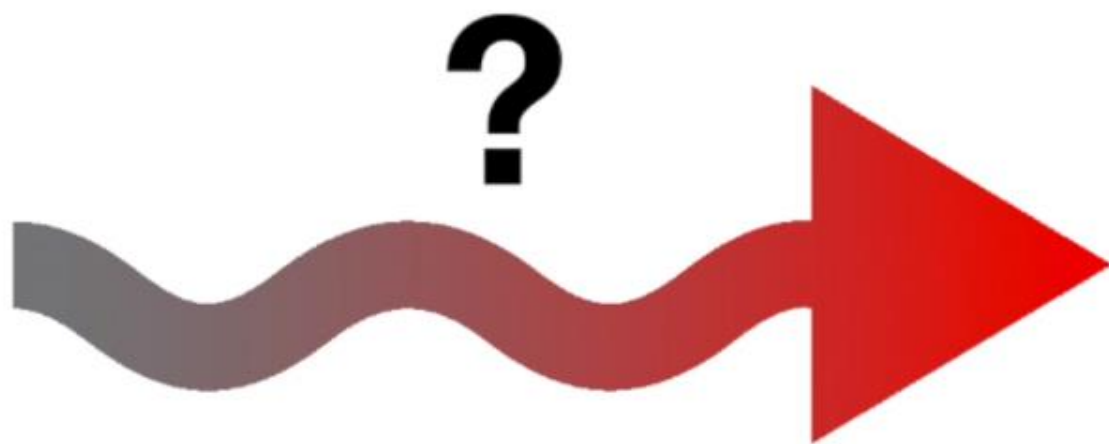


O que determina o DESTINO da célula-tronco?

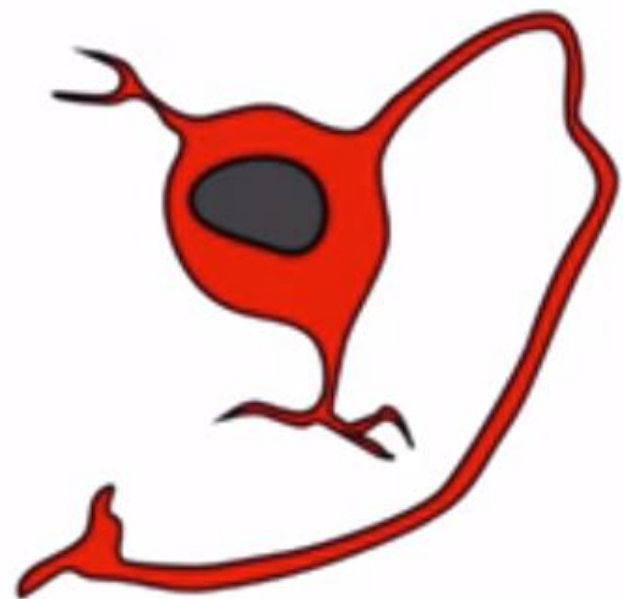
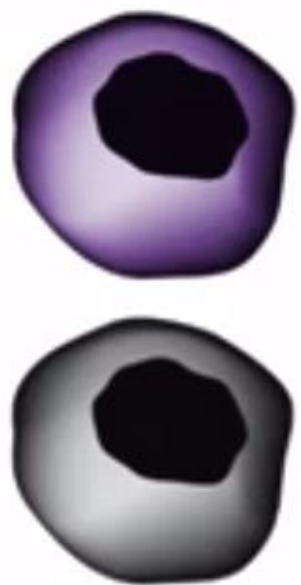
manter-se quiescente?

proliferar?

diferenciar?



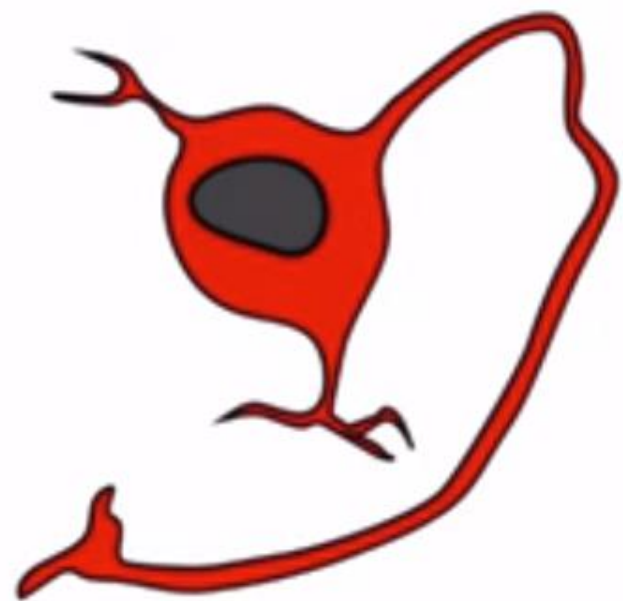
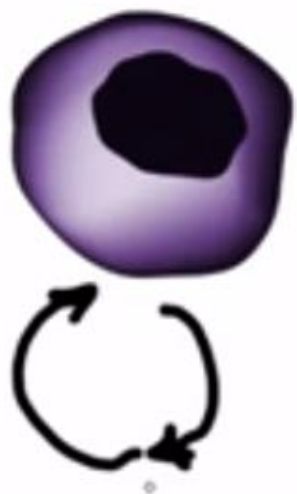


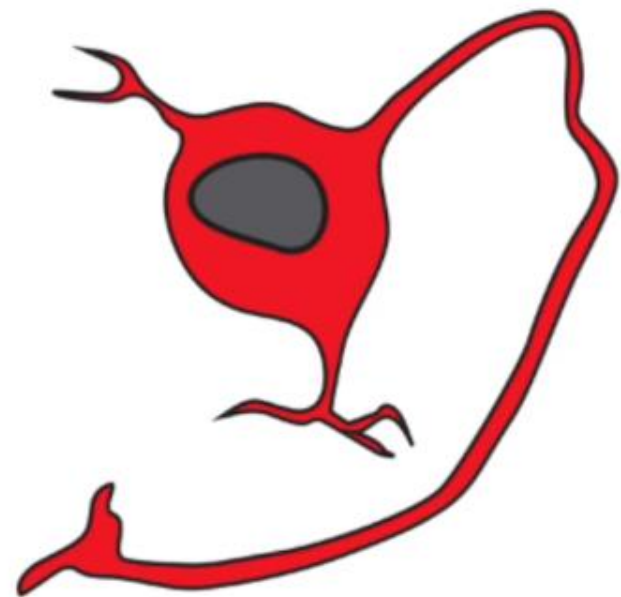
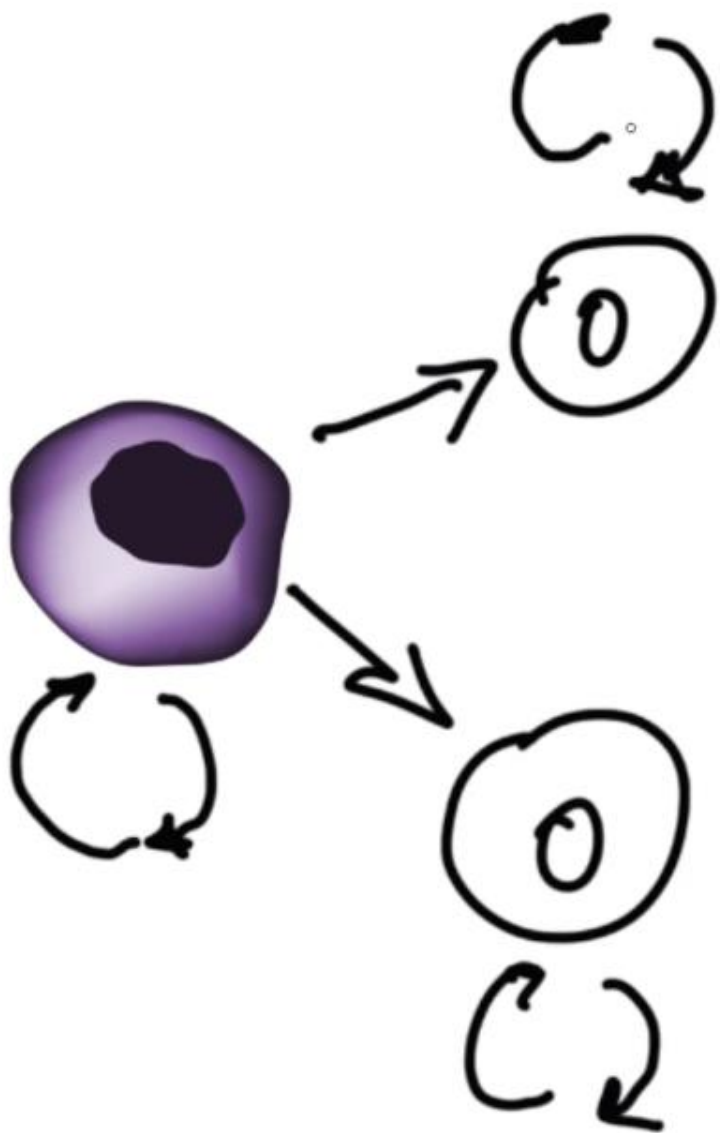


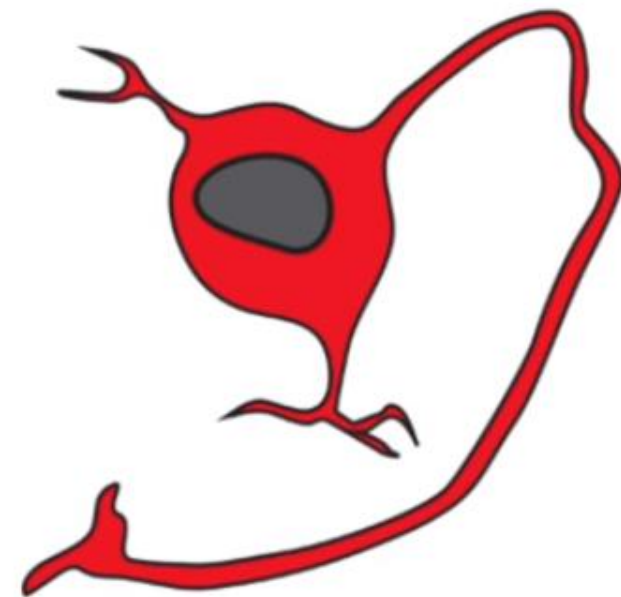
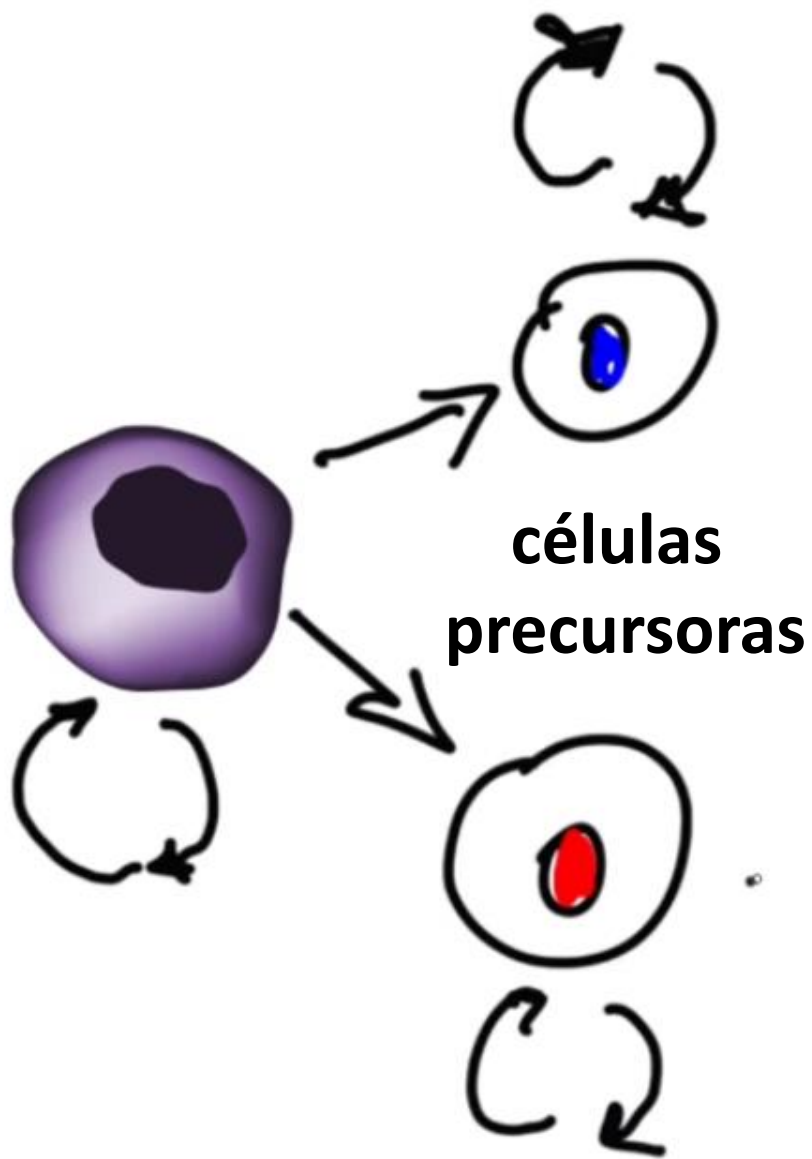


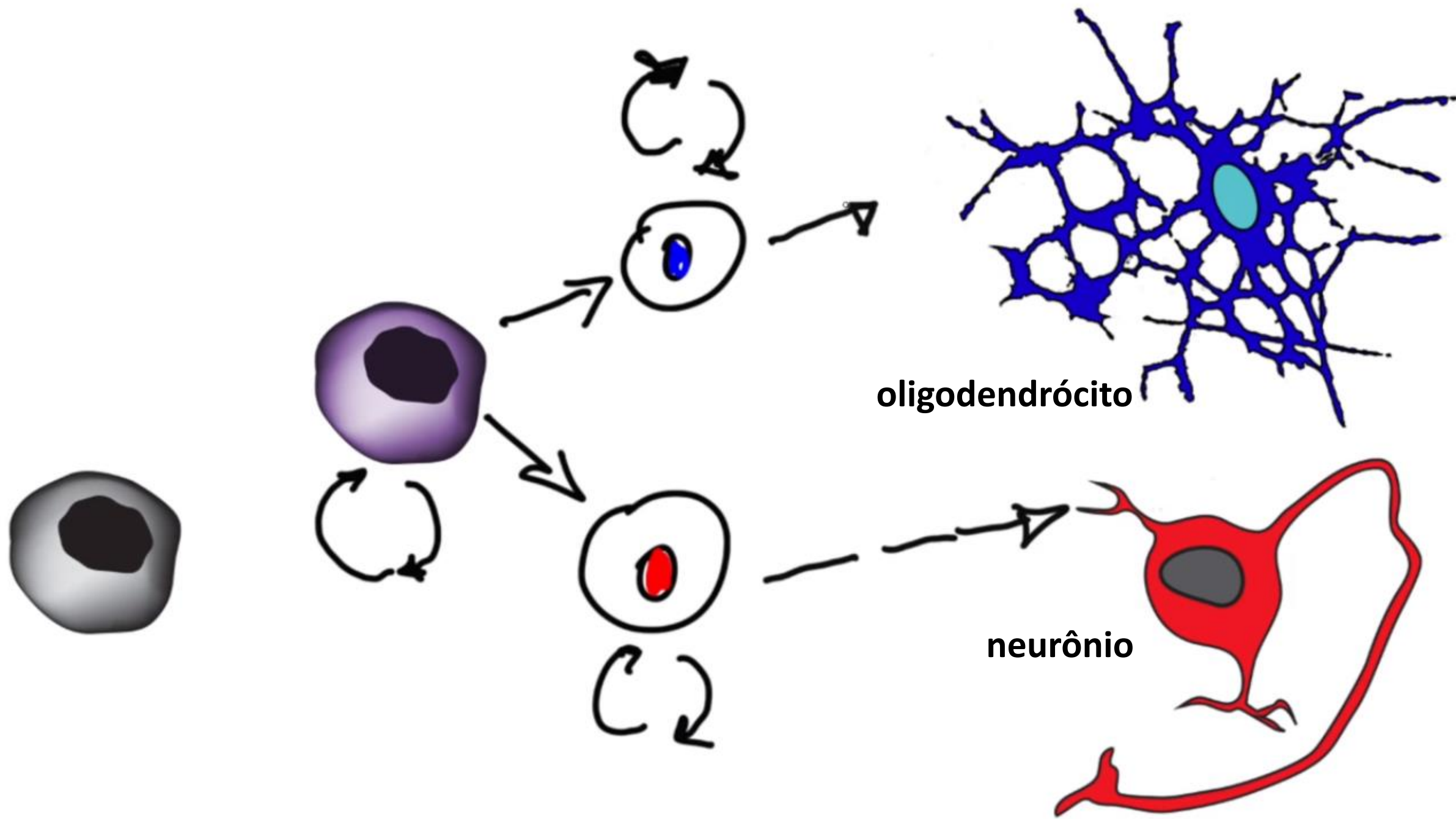
**Célula
progenitora**







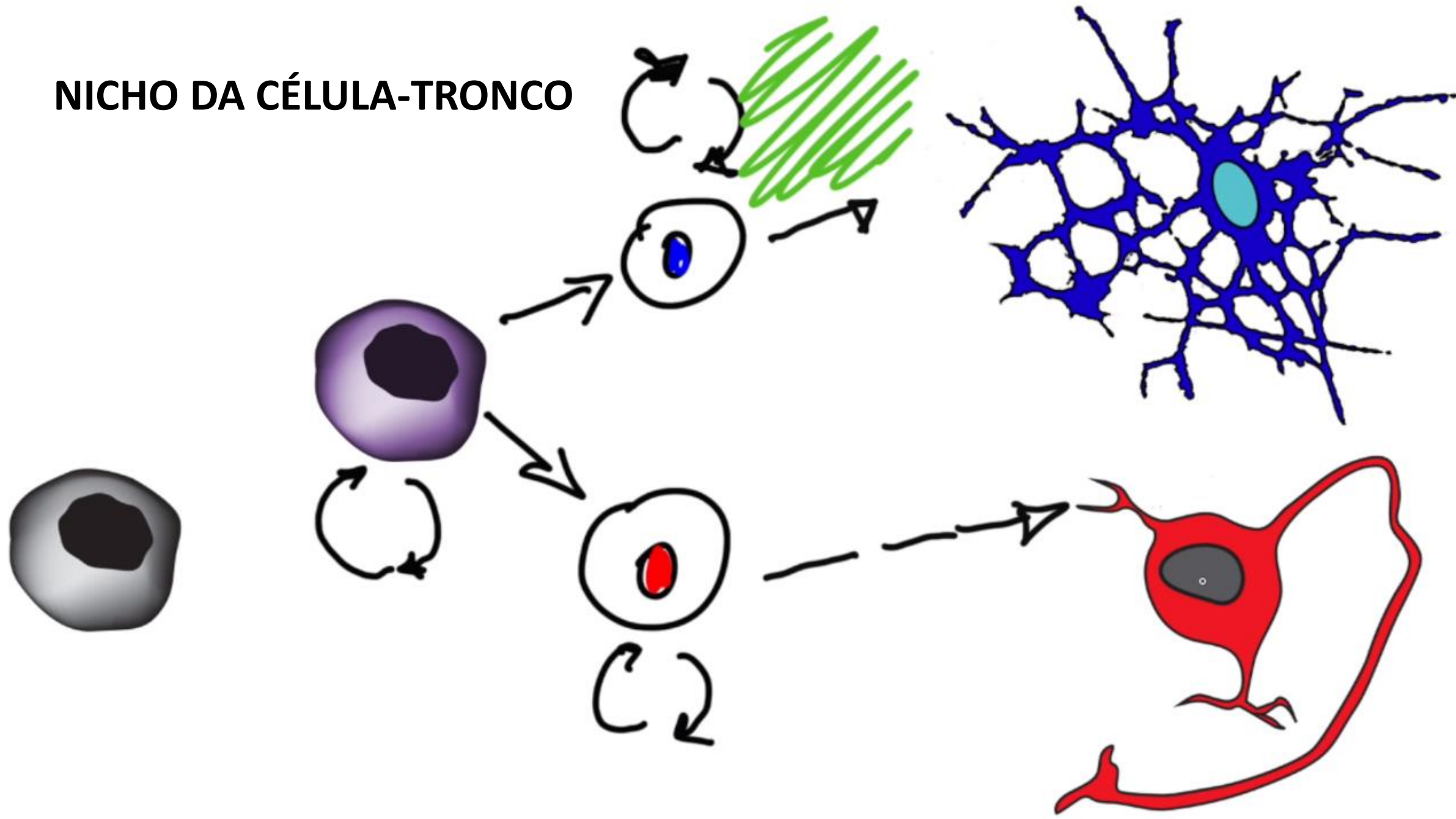


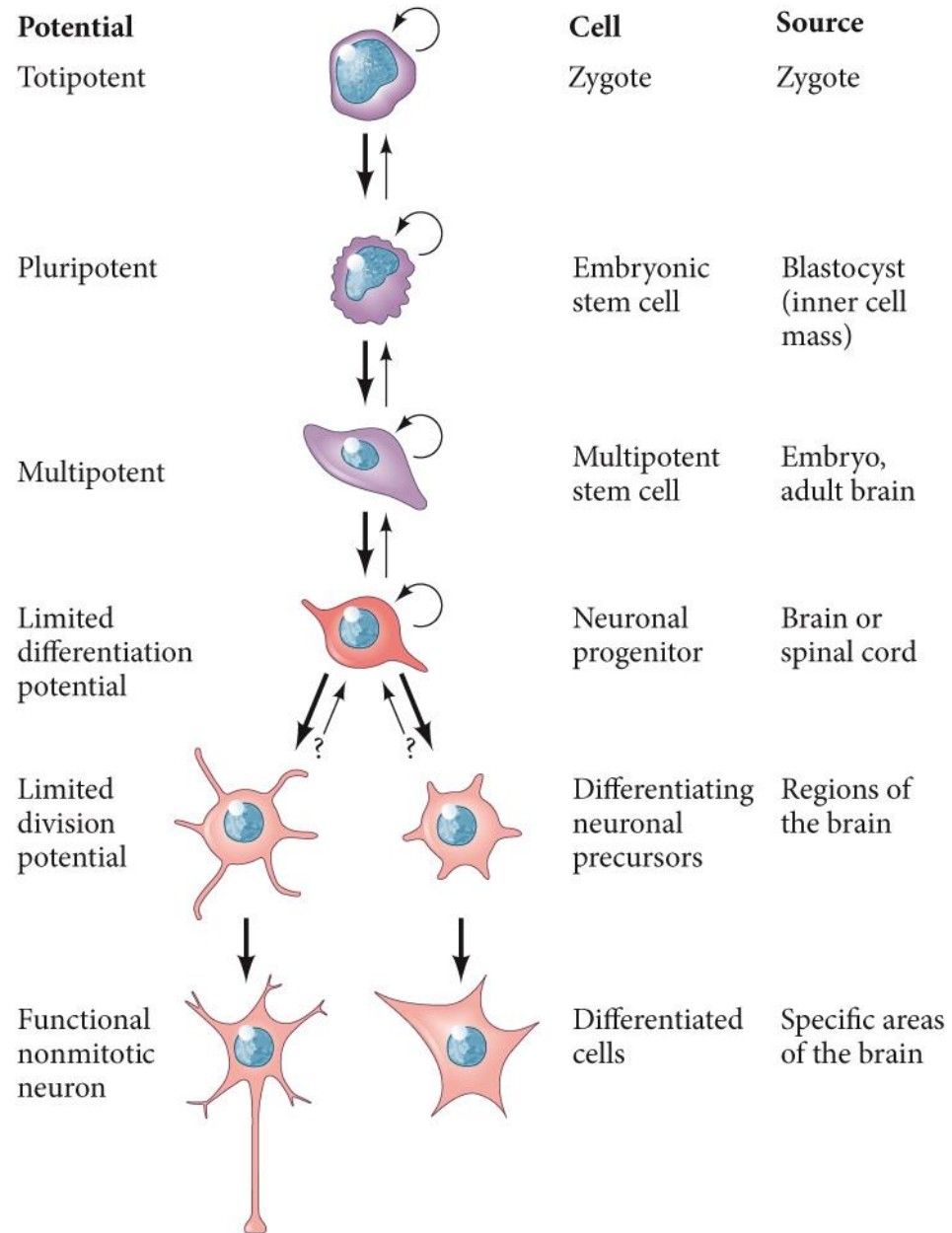


oligodendrócito

neurônio

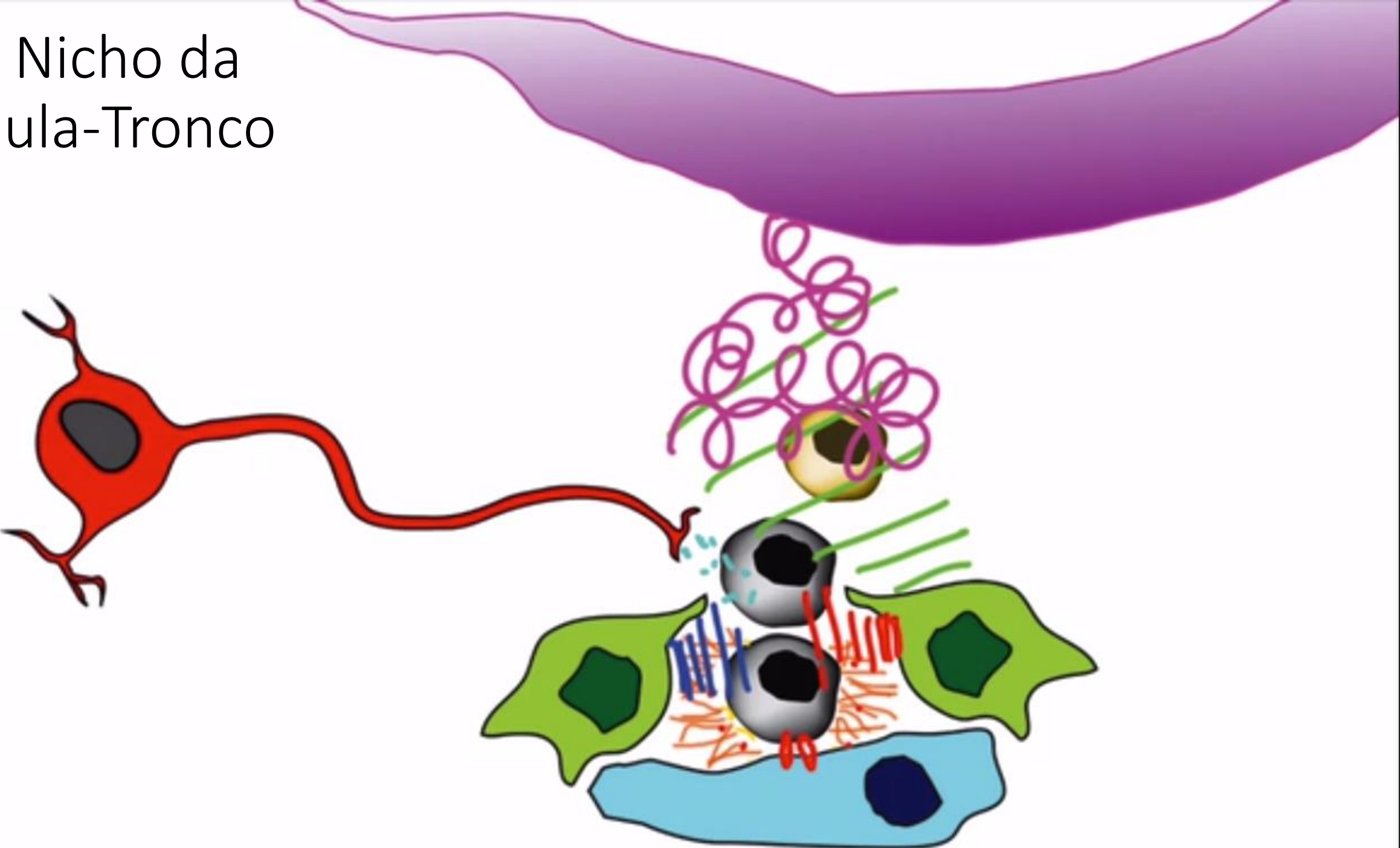
NICHO DA CÉLULA-TRONCO



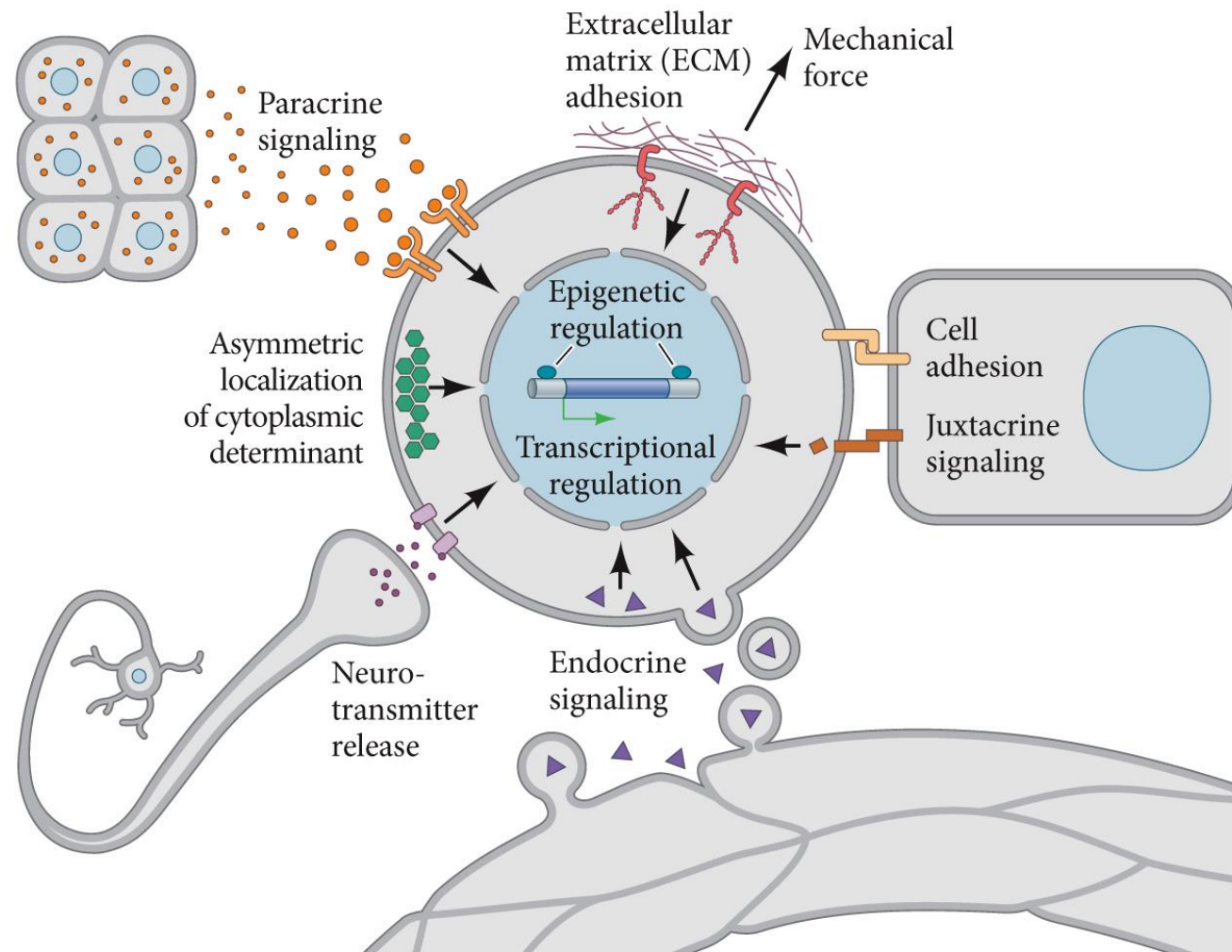


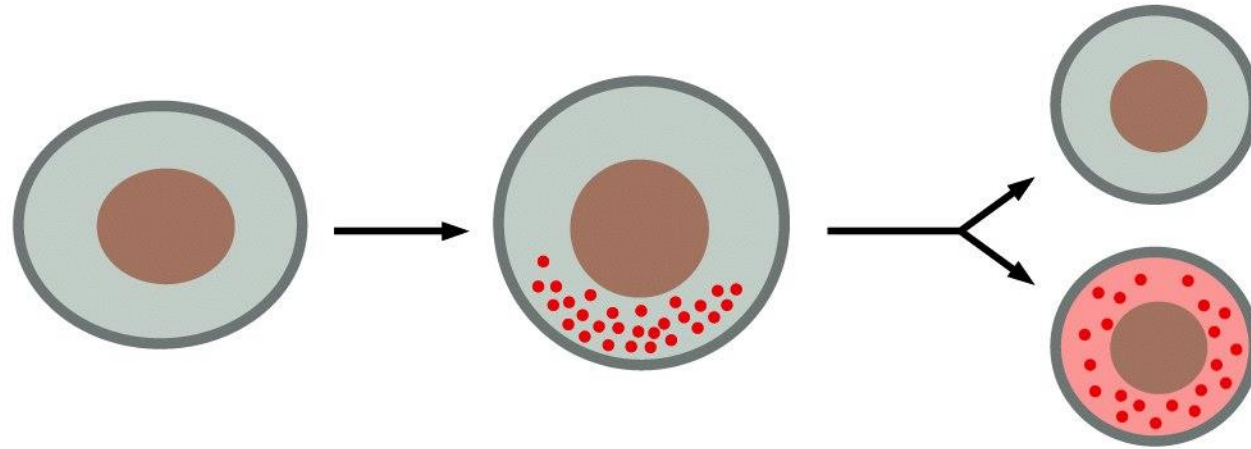
DEVELOPMENTAL BIOLOGY 11e, Figure 5.2
 © 2016 Sinauer Associates, Inc.

O Nicho da Célula-Tronco

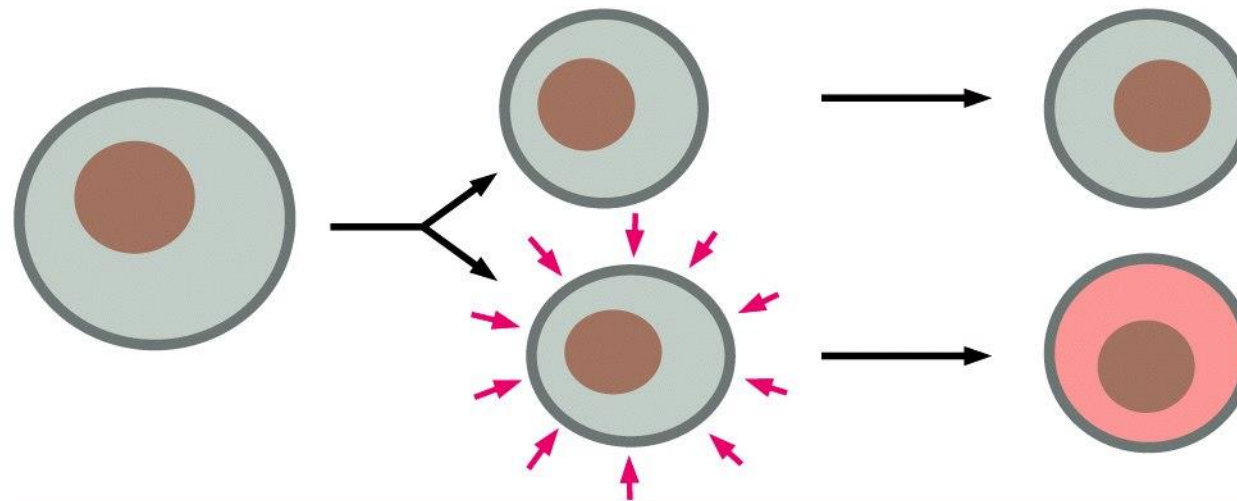


O Nicho da Célula-Tronco





1. asymmetric division : sister cells born different



2. symmetric division : sister cells become different as result of influences acting on them after their birth

Perguntas

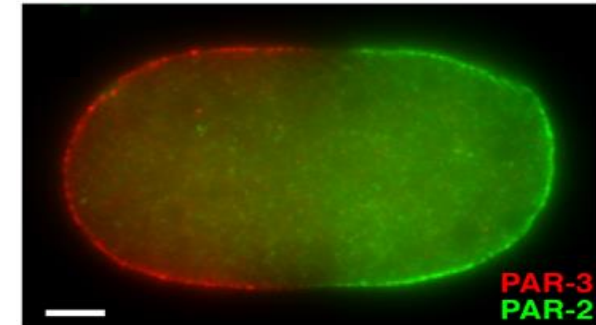
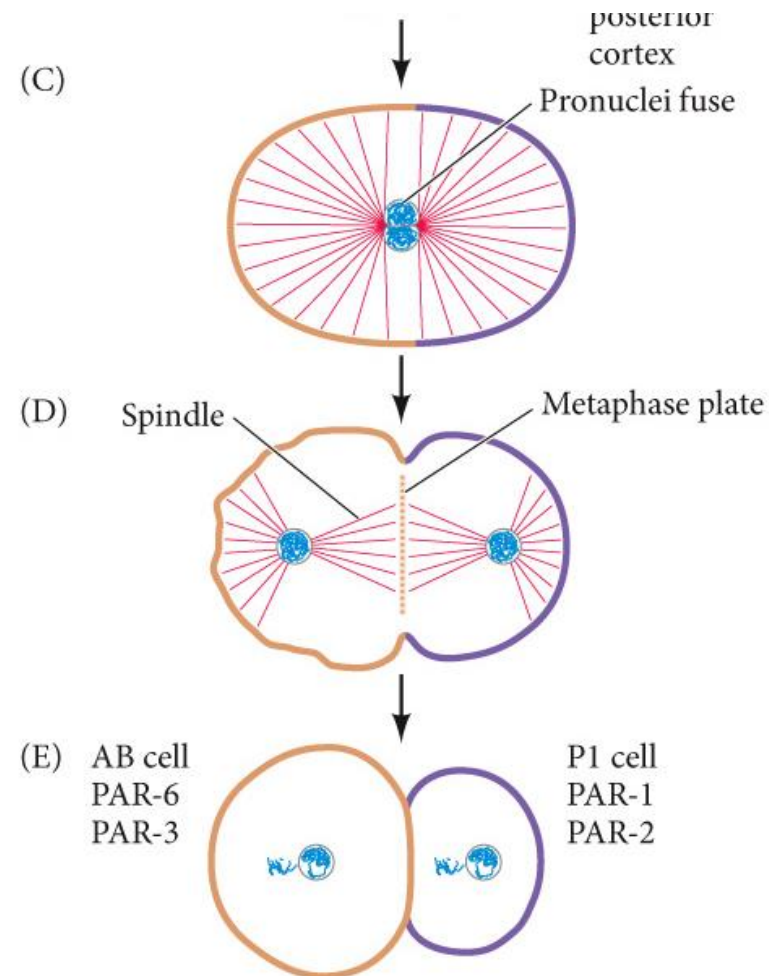
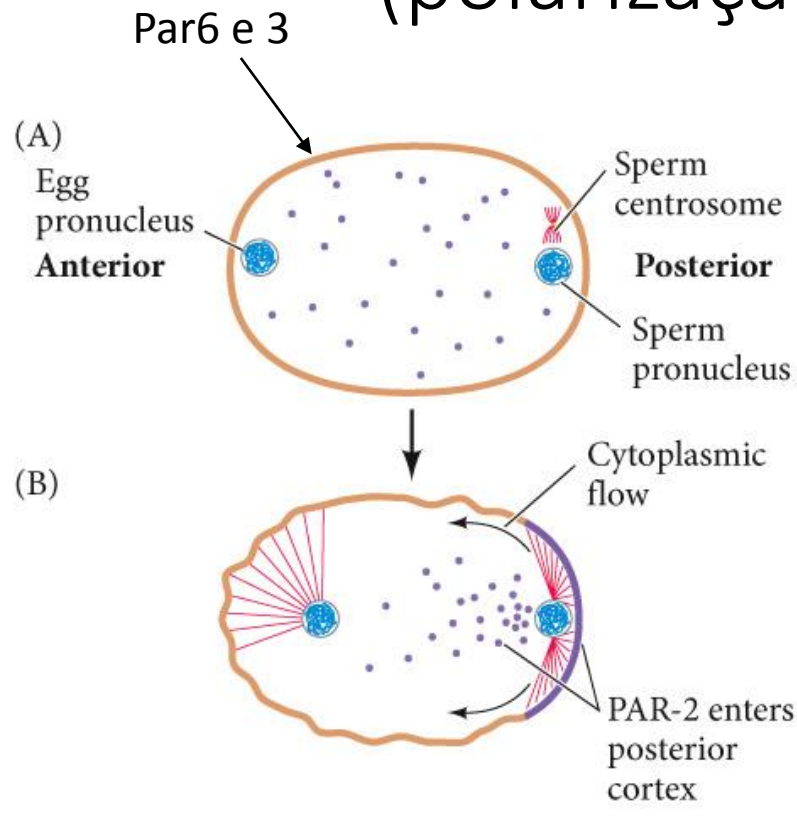
1. O que gera assimetria dentro de uma única célula?
2. quais fatores do microambiente promovem a assimetria de duas células inicialmente idênticas?
3. Por que esses fatores atuam sobre uma das células e não sobre a outra?
4. Como esses fatores que geram assimetria promovem a diferenciação celular?
5. Como essa diferenciação é mantida no organismo?
6. A diferenciação é reversível ? Quão plástica ela é?

O que gera assimetria dentro de uma única célula?

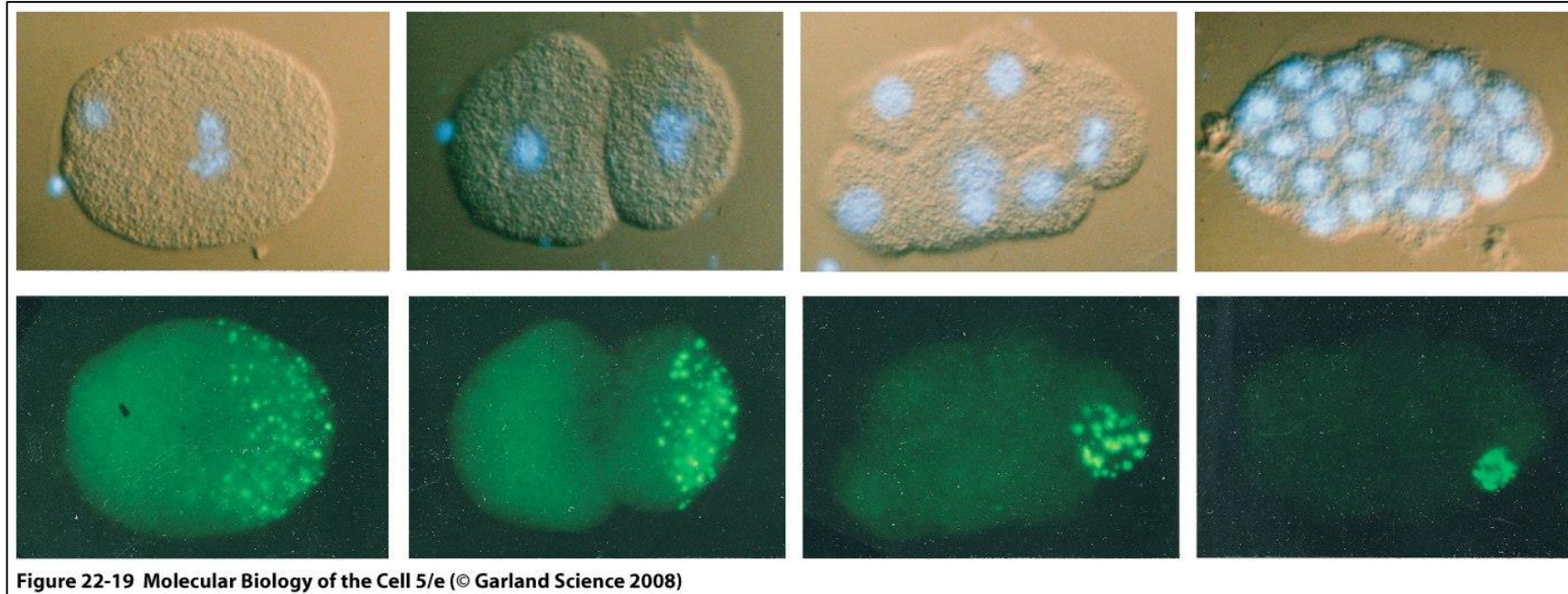


Caenorhabditis elegans

O citoesqueleto é responsável pela separação (polarização) de proteínas Par no embrião



A polarização do embrião resulta na segregação dos grânulos P somente para uma das células

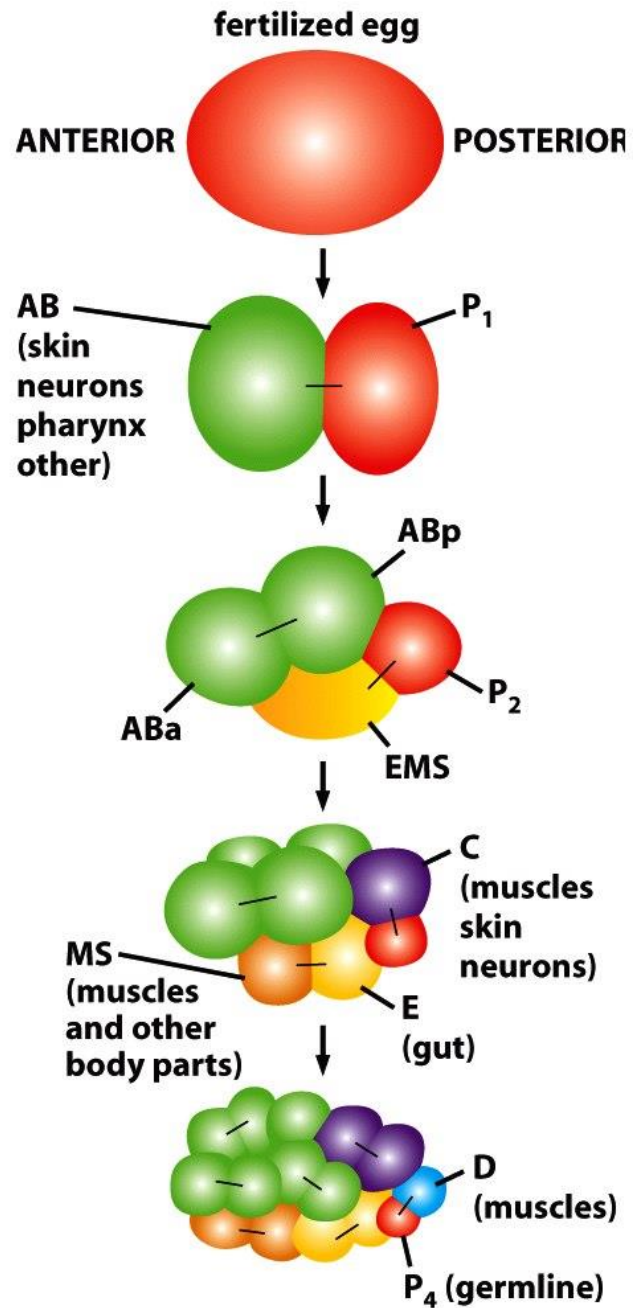


Caenorhabditis elegans

grânulos P – moléculas regulatórias

núcleo

diferenças
são geradas
por uma
distribuição
desigual de
fatores
regulatórios



diferenças
geradas pela
interação entre
as células

Figure 22-20 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

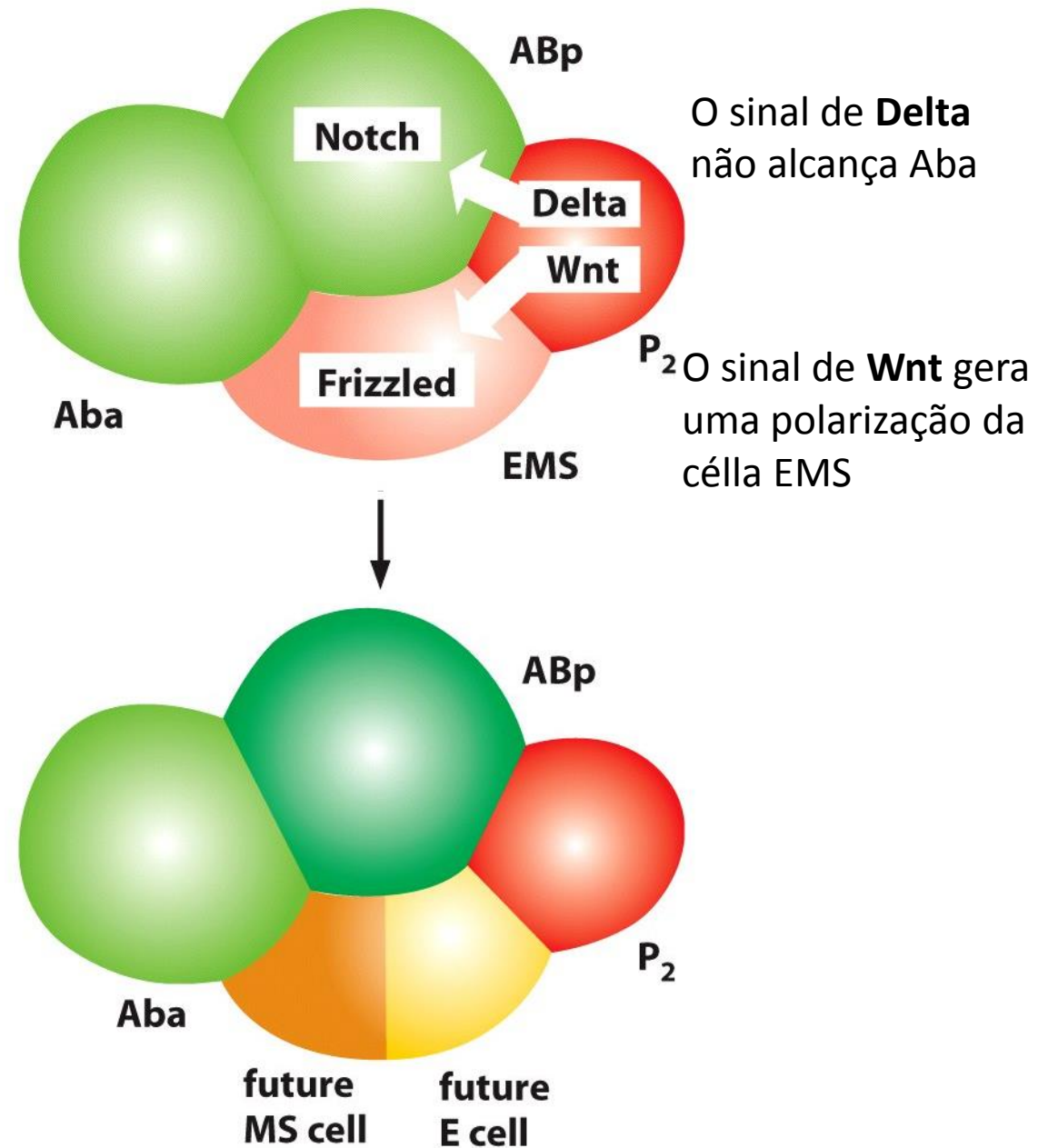
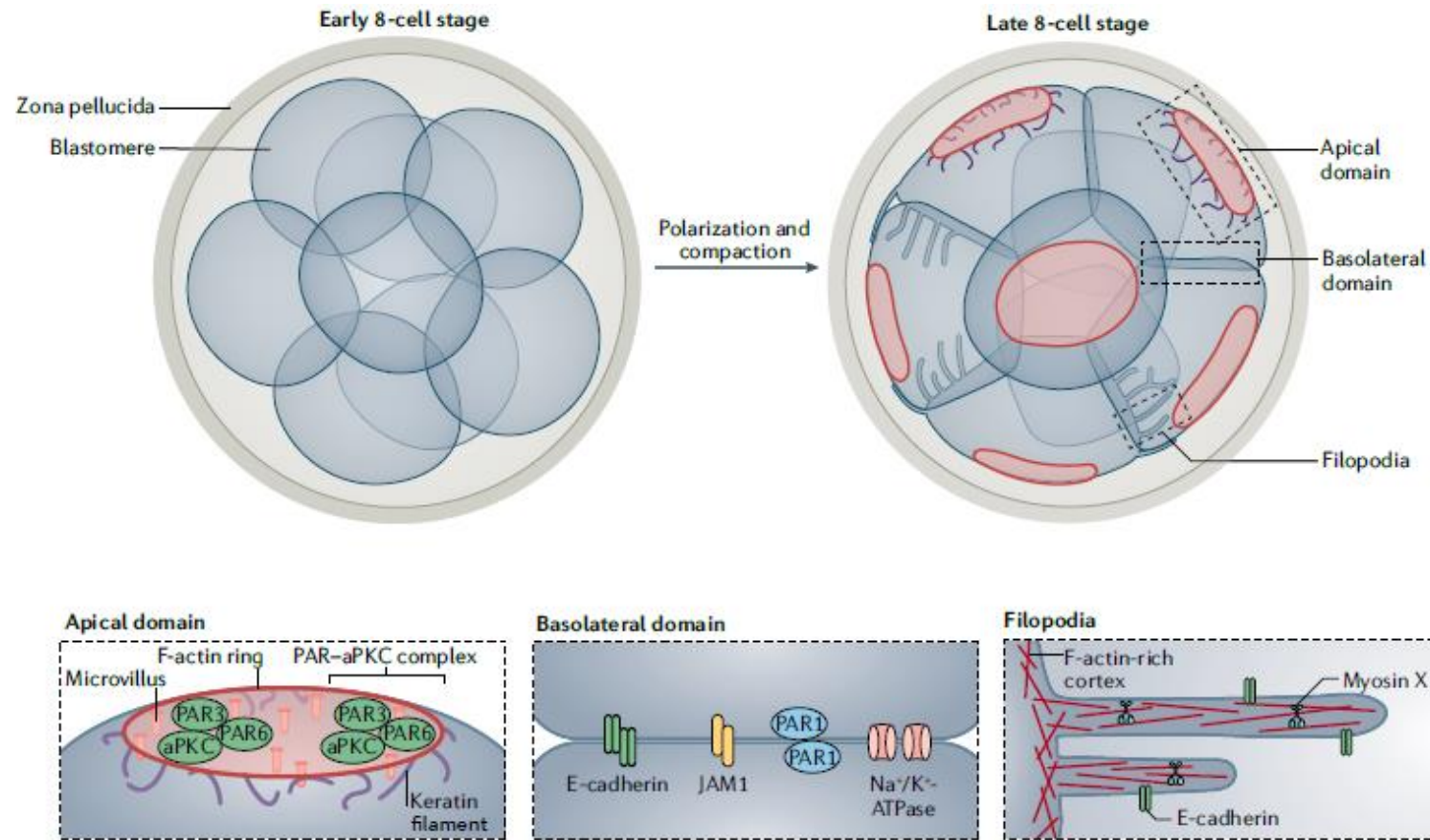
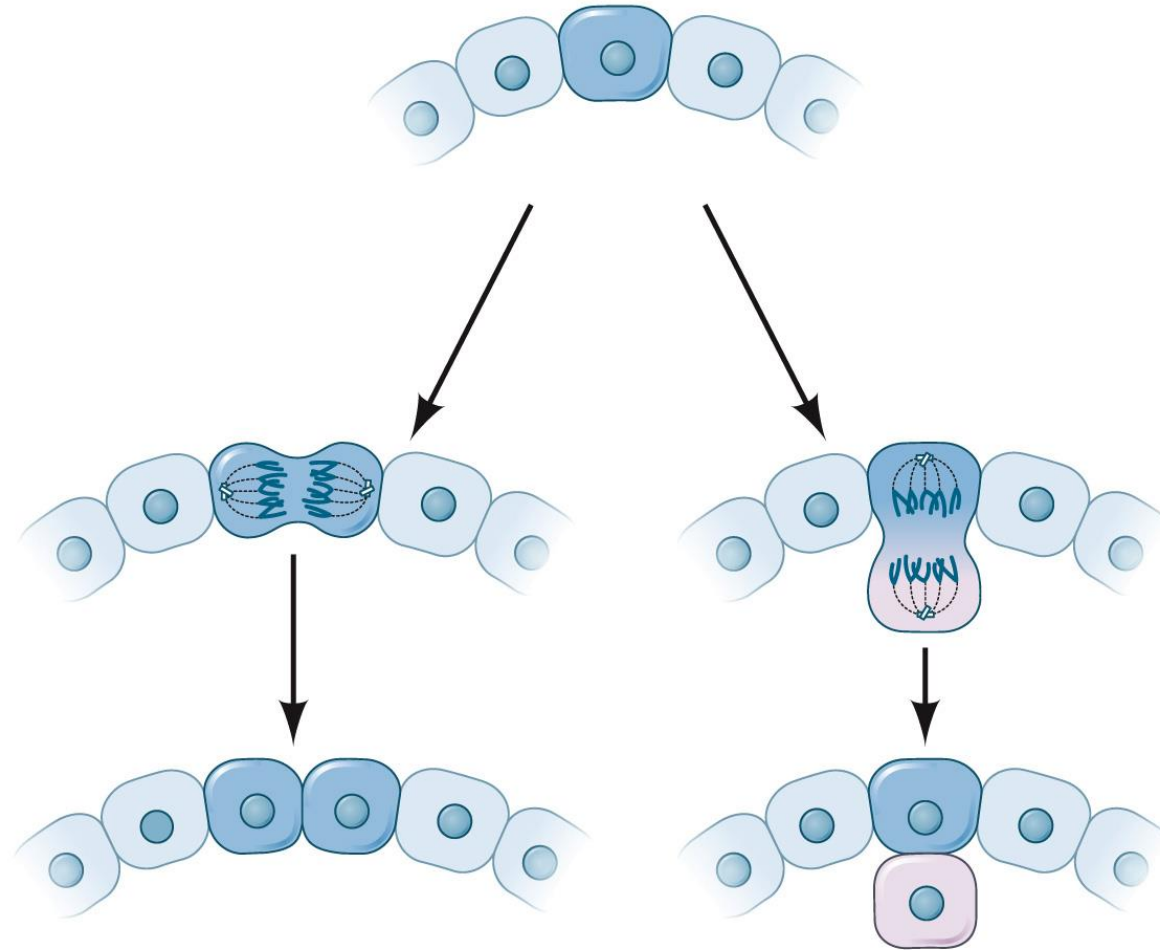
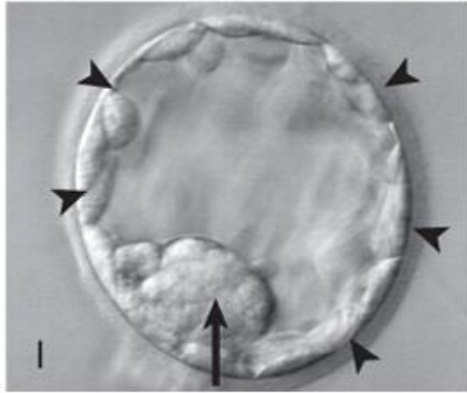


Figure 22-21 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

Proteínas Par também regulam a polarização do embrião de mamíferos

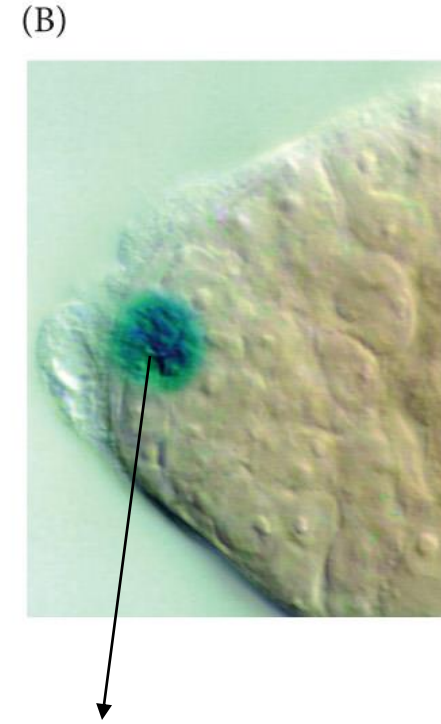
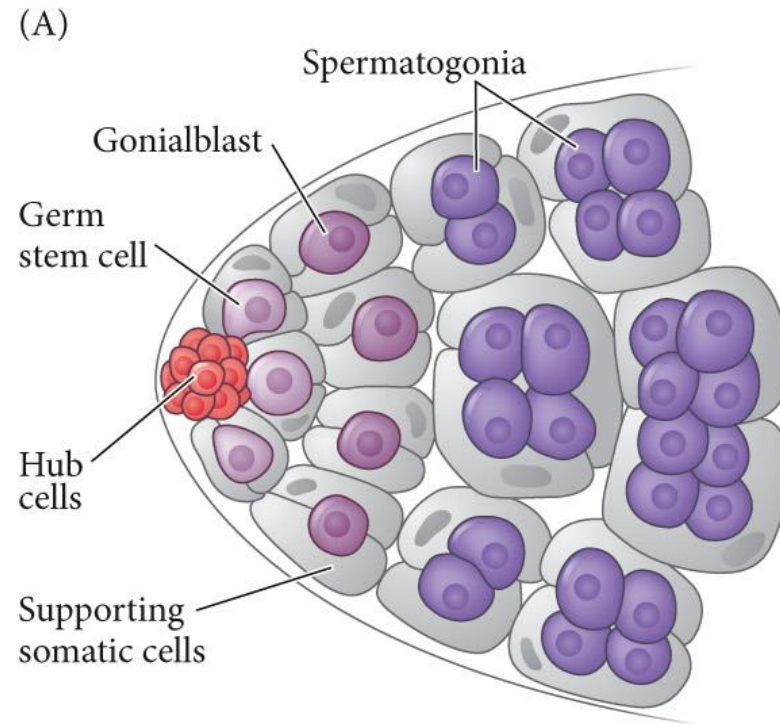


Orientação do fuso mitótico pode definir o destino da célula



O papel do nicho das células-tronco na diferenciação celular

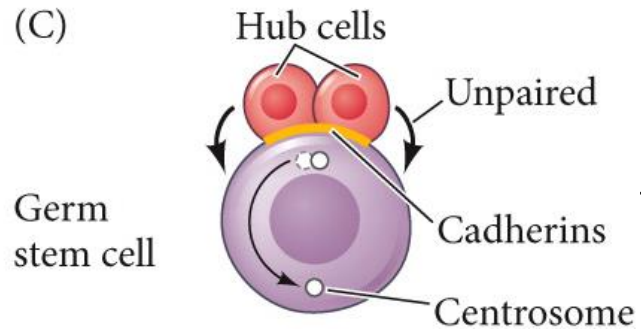
Testículo de *Drosophila*



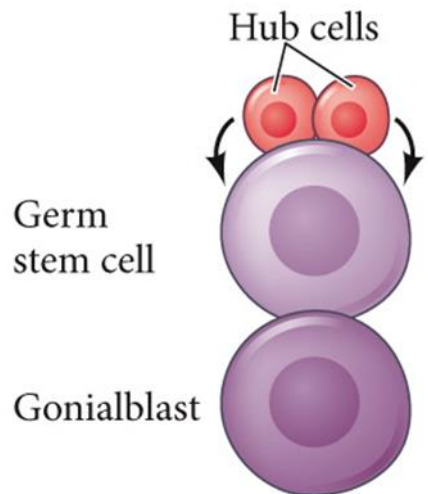
DEVELOPMENTAL BIOLOGY 11e, Figure 5.8
© 2016 Sinauer Associates, Inc.

O papel do nicho das células-tronco na diferenciação celular - 2

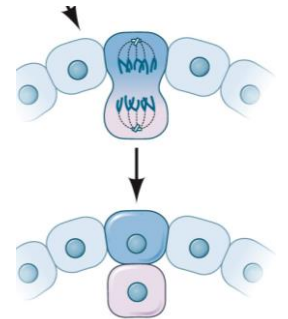
(C)

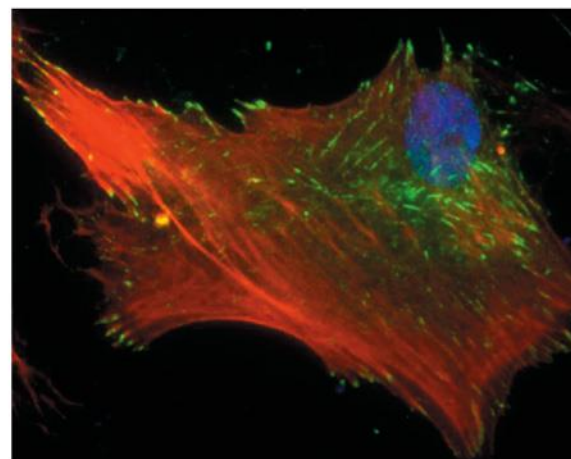
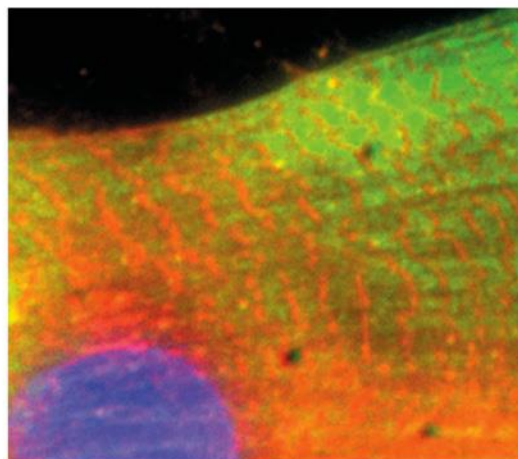
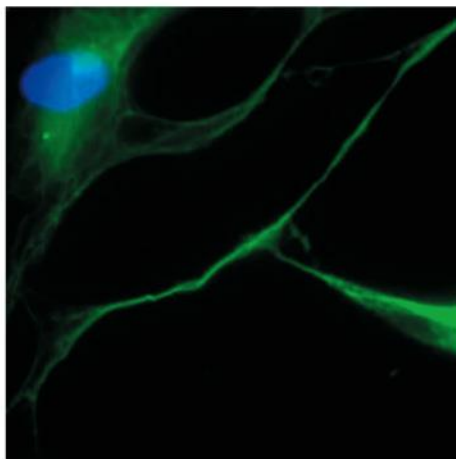
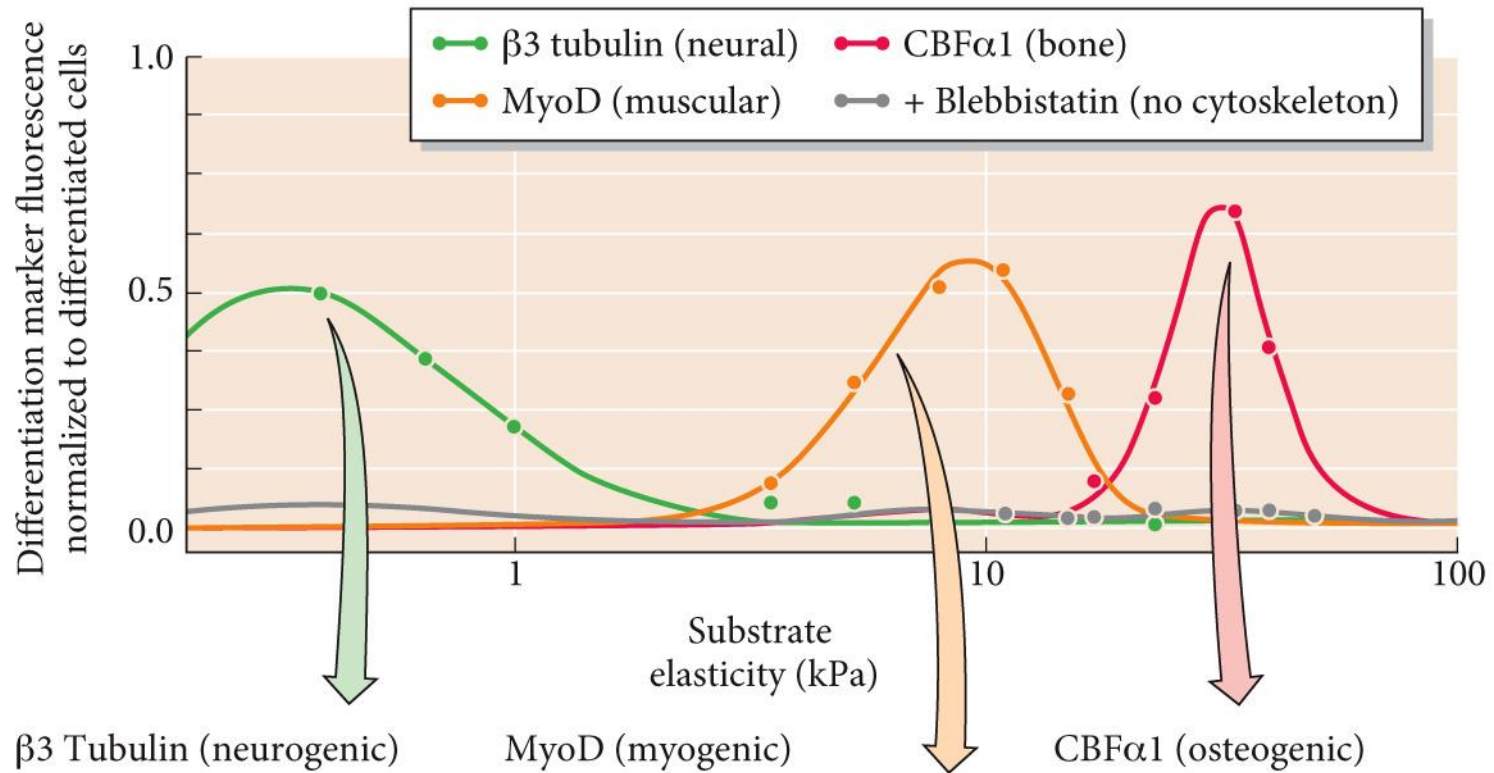


Unpaired → ativação de JAK-STAT nas GSC → **AUTORENOVAÇÃO**



Adesão entre células hub e GSC orienta a direção das fibras do fuso → célula-filha não aderida à célula hub (e distante de unpaired) → **DIFERENCIAÇÃO**

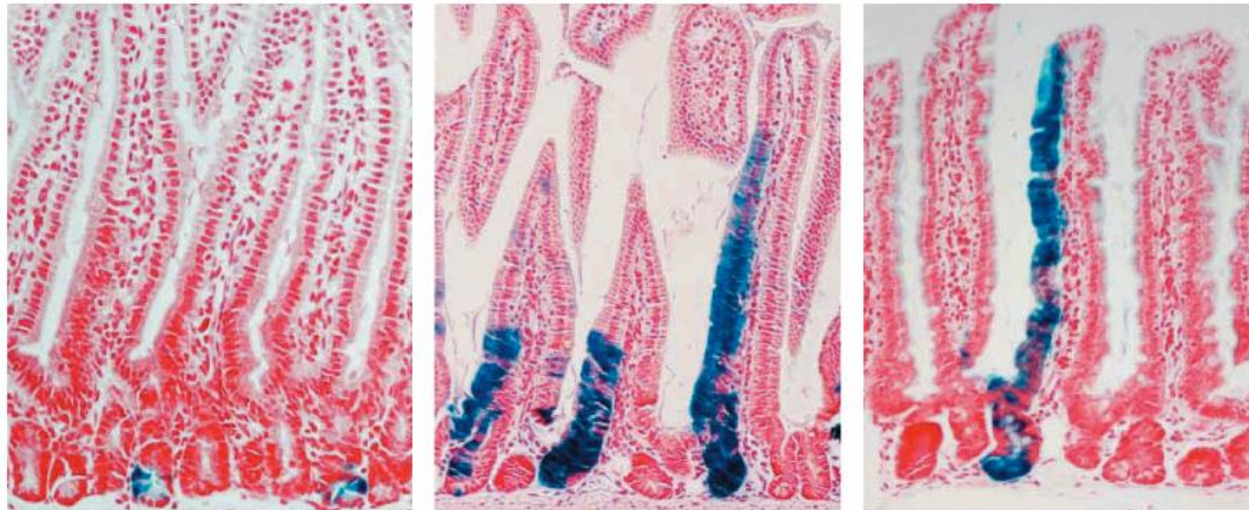


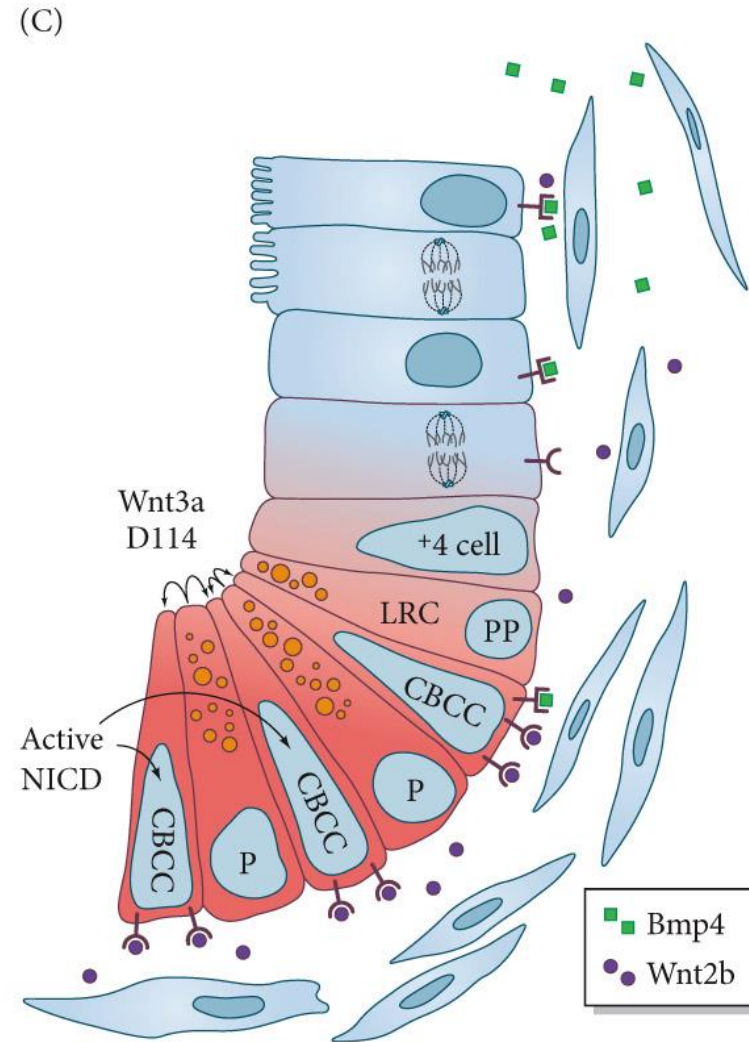
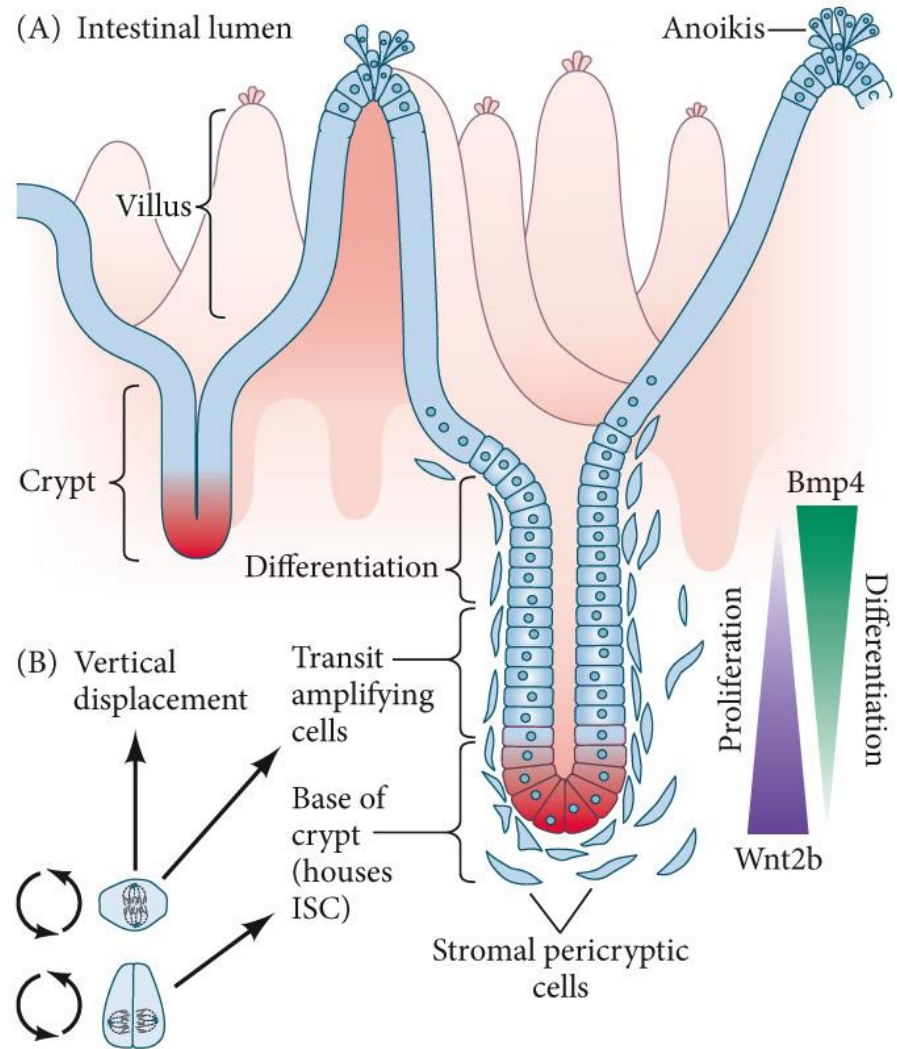


DEVELOPMENTAL BIOLOGY 11e, Figure 5.18
 © 2016 Sinauer Associates, Inc.

Diferenciação de células-tronco adultas – cripta intestinal

(A)





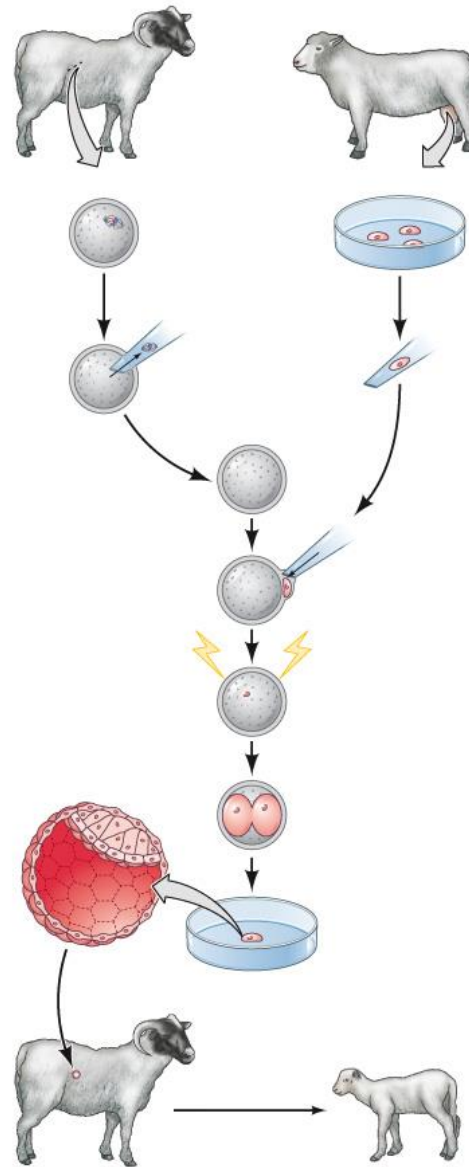
DEVELOPMENTAL BIOLOGY 11e, Figure 5.13
 © 2016 Sinauer Associates, Inc.

Perguntas

1. O que gera assimetria dentro de uma única célula?
2. quais fatores do microambiente promovem a assimetria de duas células inicialmente idênticas?
3. Por que esses fatores atuam sobre uma das células e não sobre a outra?
4. Como esses fatores que geram assimetria promovem a diferenciação celular?
5. Como essa diferenciação é mantida no organismo?
6. A diferenciação é reversível ? Quão plástica ela é?

Equivalência genômica

(A)



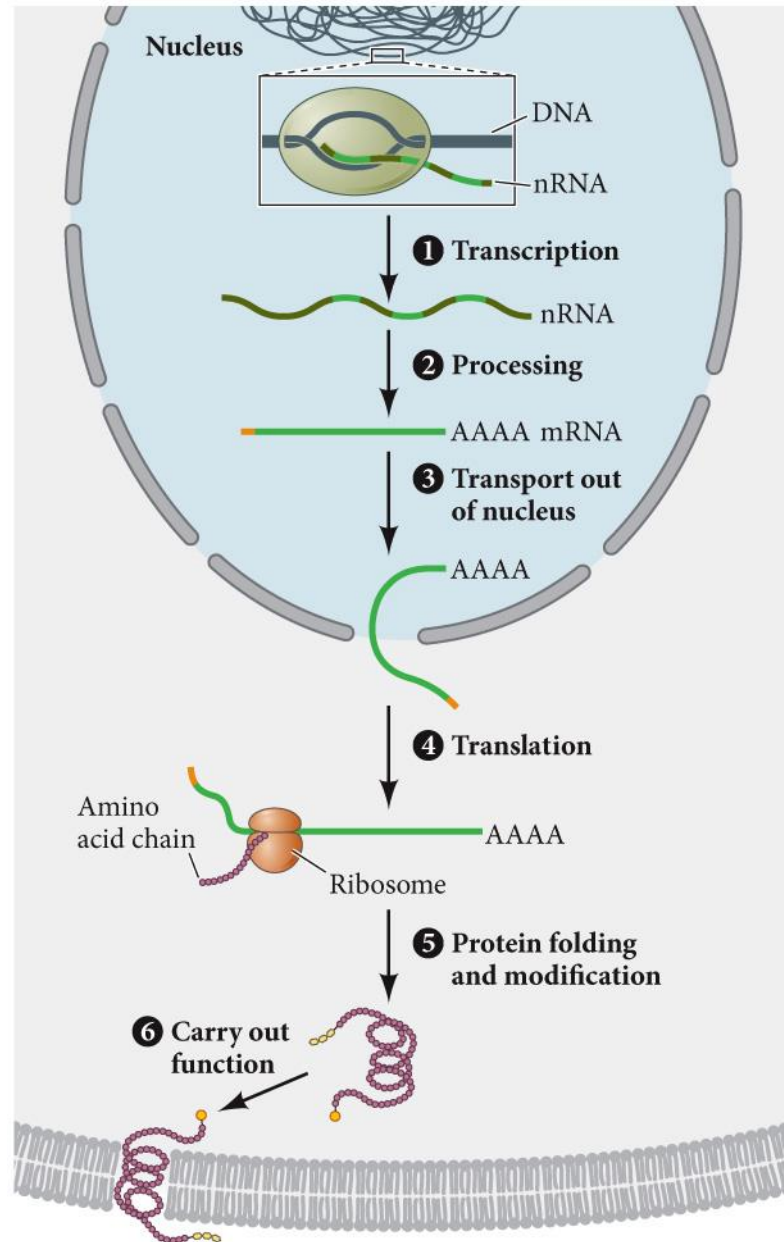
(B)



DEVELOPMENTAL BIOLOGY 11e, Figure 3.3 (Part 2)
© 2016 Sinauer Associates, Inc.

DEVELOPMENTAL BIOLOGY 11e, Figure 3.3 (Part 1)
© 2016 Sinauer Associates, Inc.

Se todas as células têm
exatamente os mesmos genes, o
que as faz ser diferentes?



DEVELOPMENTAL BIOLOGY 11e, Figure 3.1
© 2016 Sinauer Associates, Inc.

A diferenciação celular ocorre por que as células passam a expressar genes diferentes (**expressão gênica diferencial**)

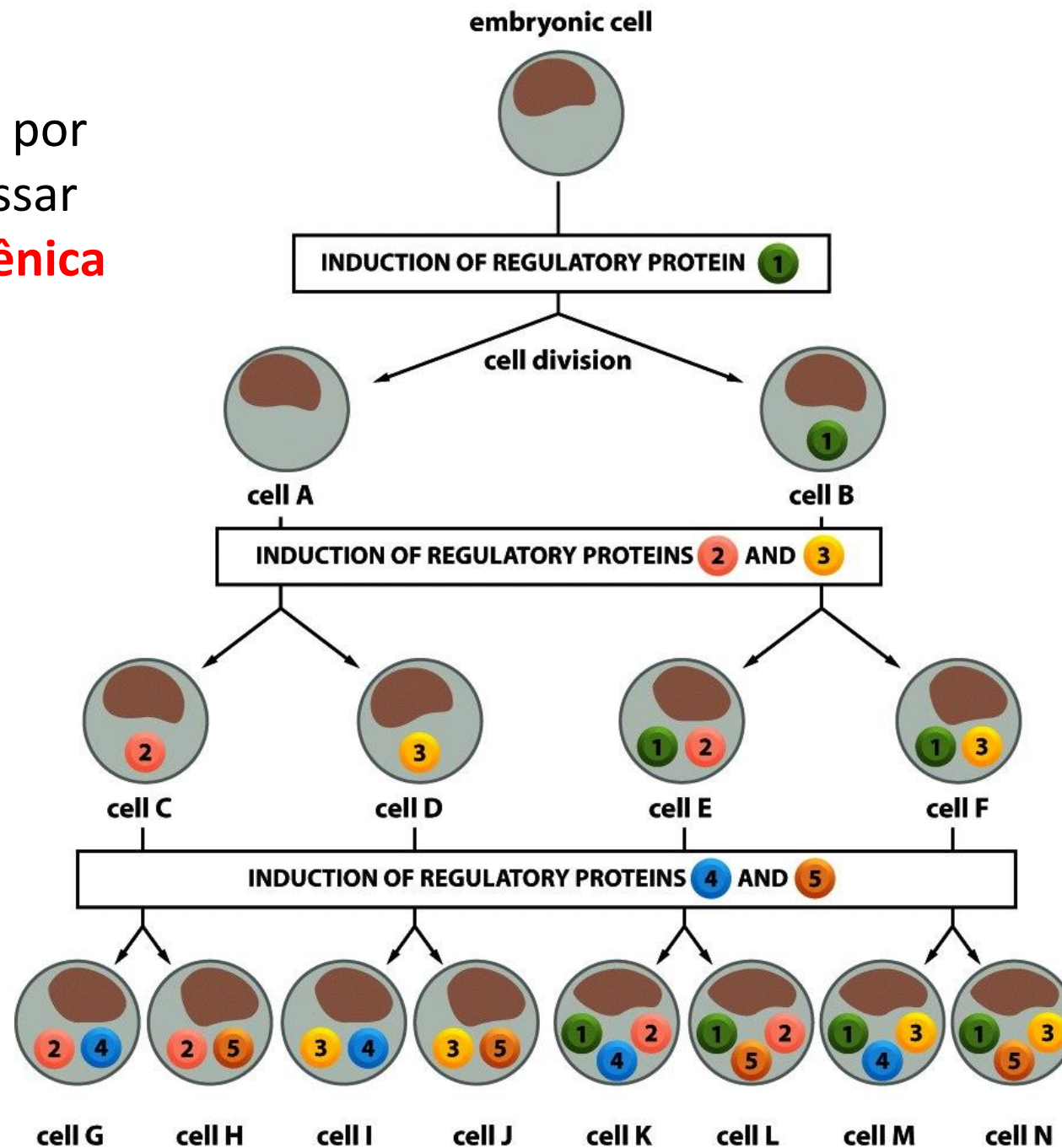
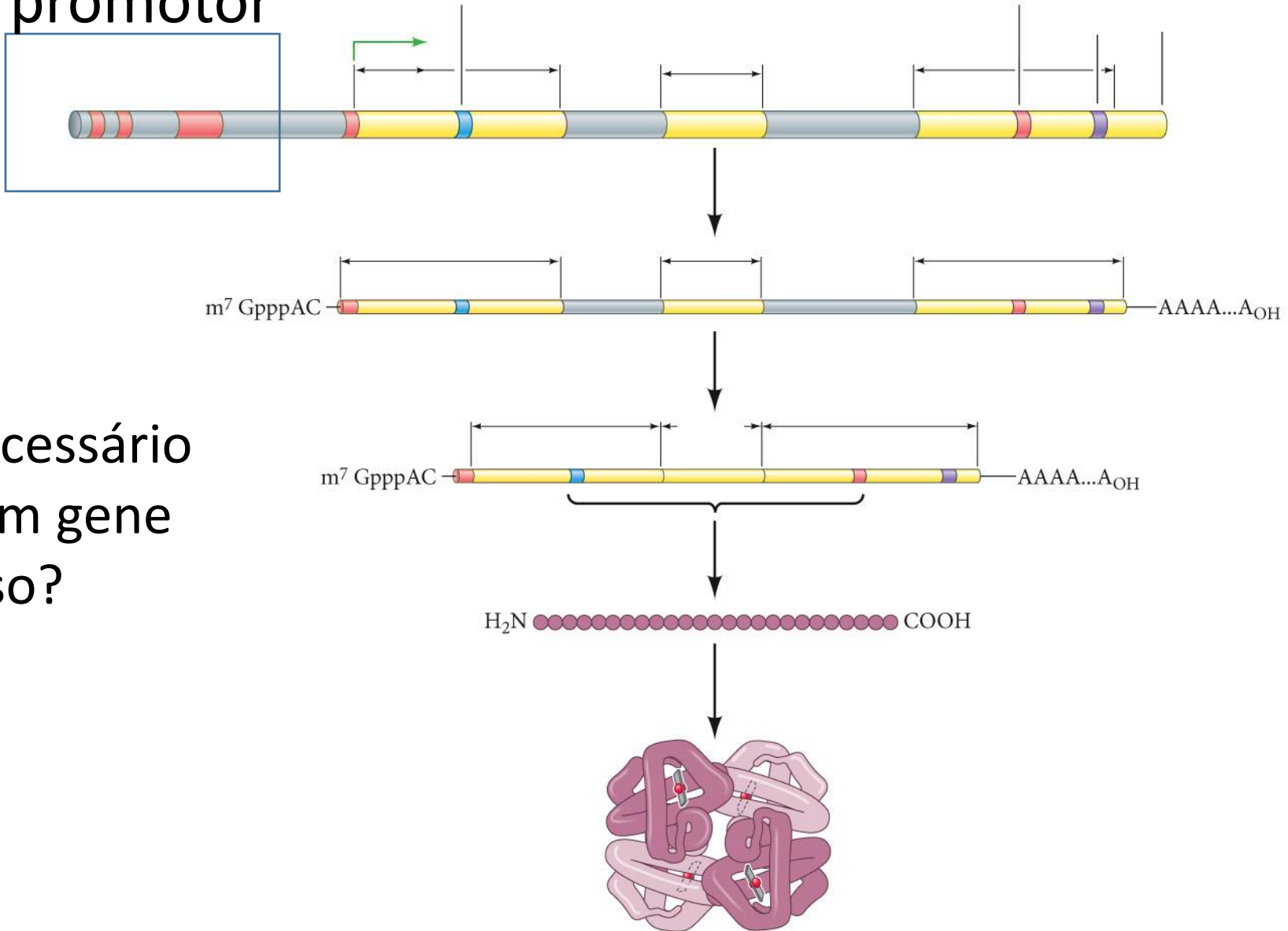


Figure 7-76 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

Genes e proteínas são regulados em diferentes níveis

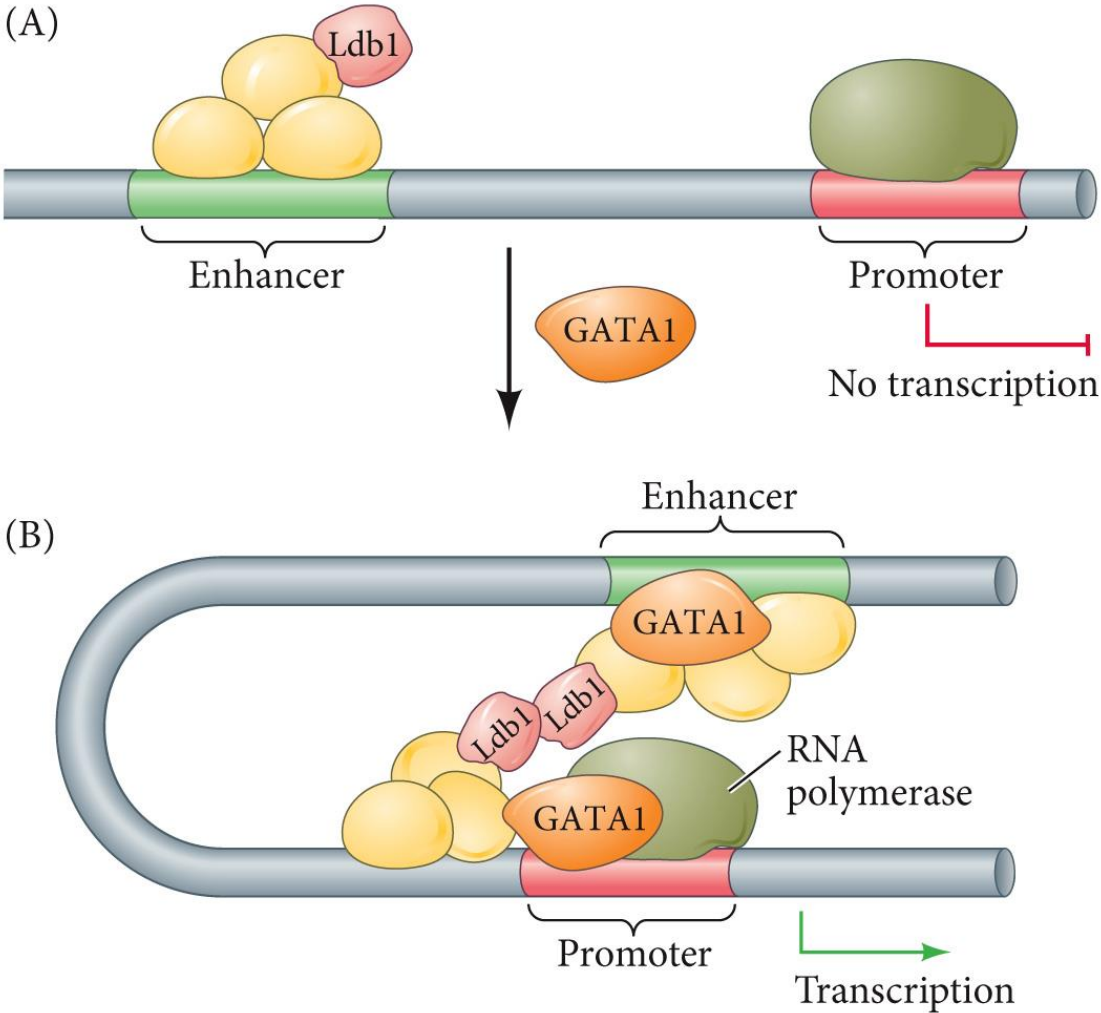
- Alterações na cromatina
- Transcrição gênica
- Processamento de RNA (splicing, meia-vida)
- Síntese proteica (taxa de síntese)
- Meia-vida de proteínas
- Modificações pós-traducionais
- Localização subcelular (moléculas podem estar restritas espacialmente na célula)

promotor



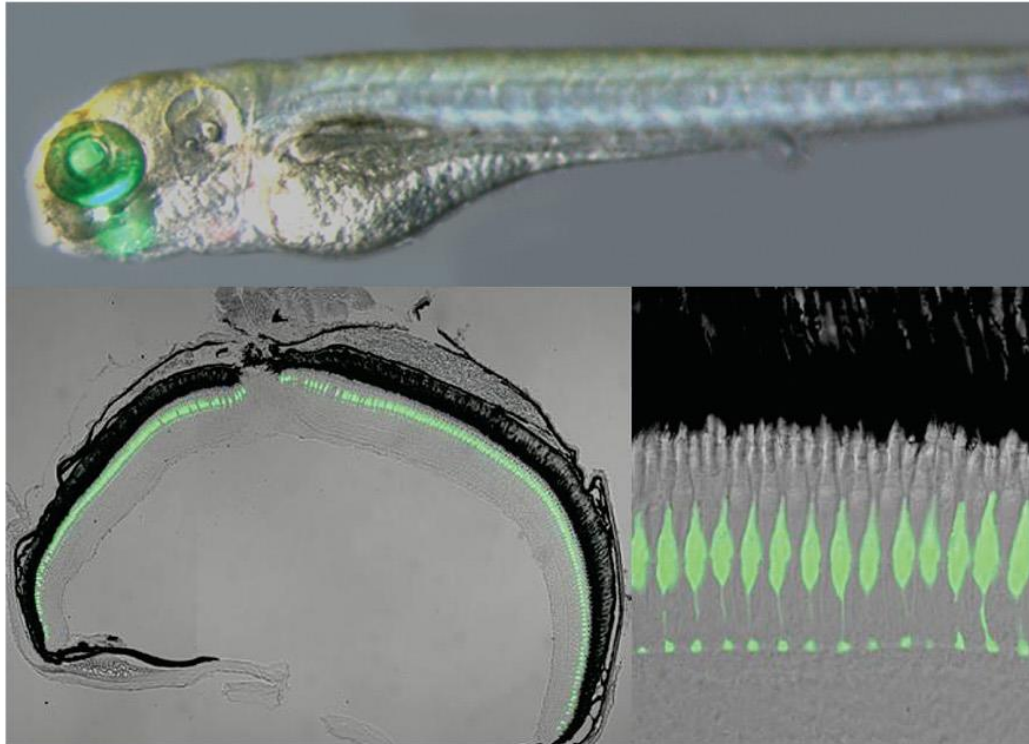
O que é necessário
para que um gene
seja expresso?

Enhancers



Como é possível identificar um *enhancer* no organismo?

(A)



DEVELOPMENTAL BIOLOGY 11e, Figure 3.9
© 2016 Sinauer Associates, Inc.

Enhancer ativo na retina

(B)

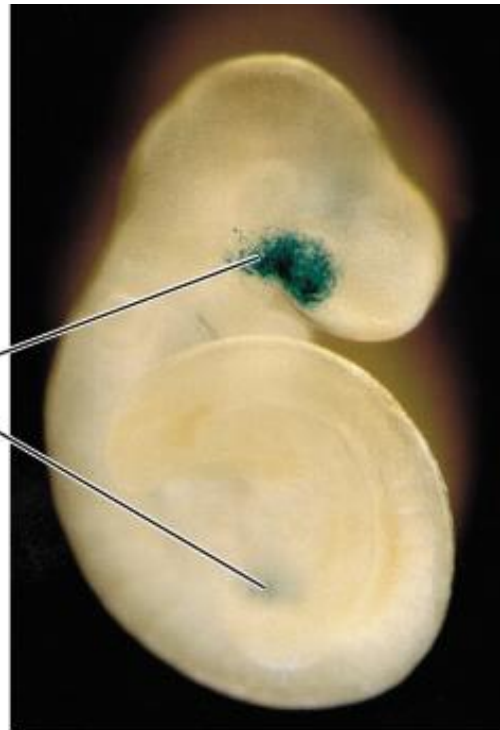


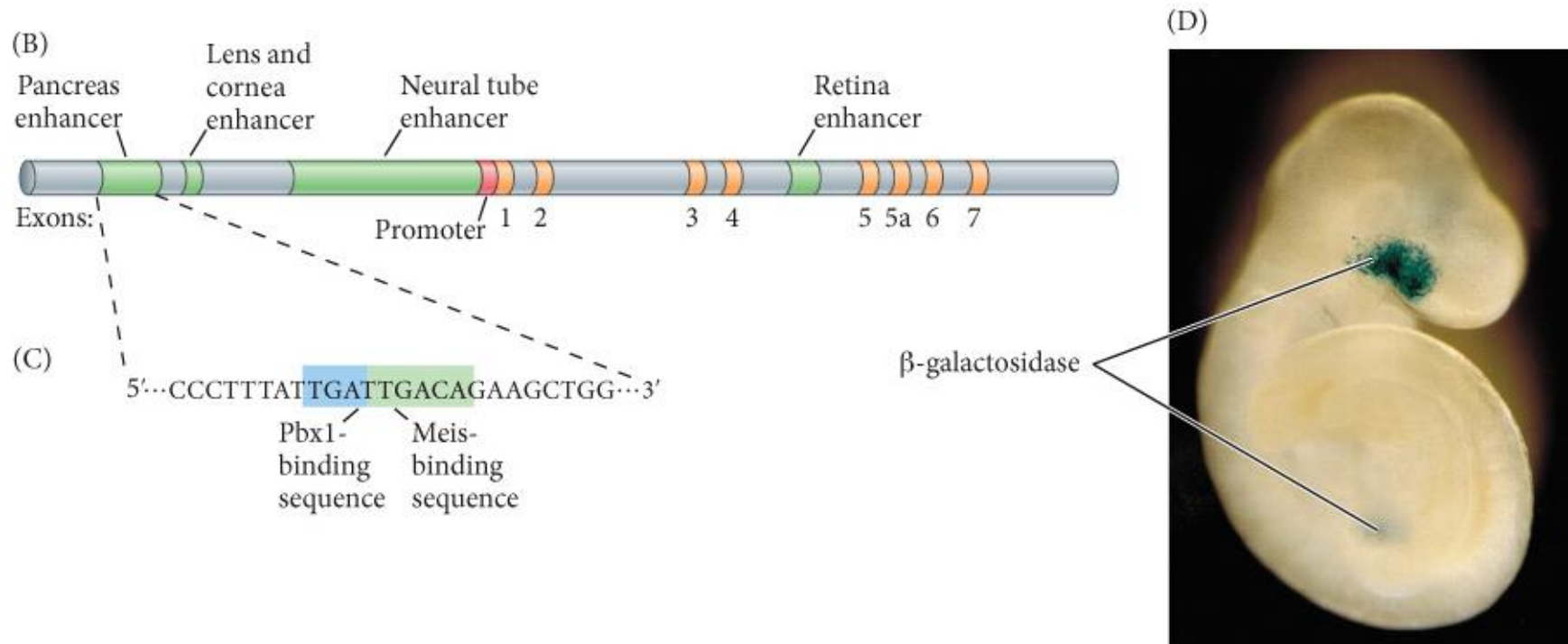
enhancer ativo em precursores
de células musculares

Se as sequências dos *enhancers* estão presentes em todas as células, porque eles estão ativos somente em algumas células ?

Mesmo gene expresso na retina e no pâncreas

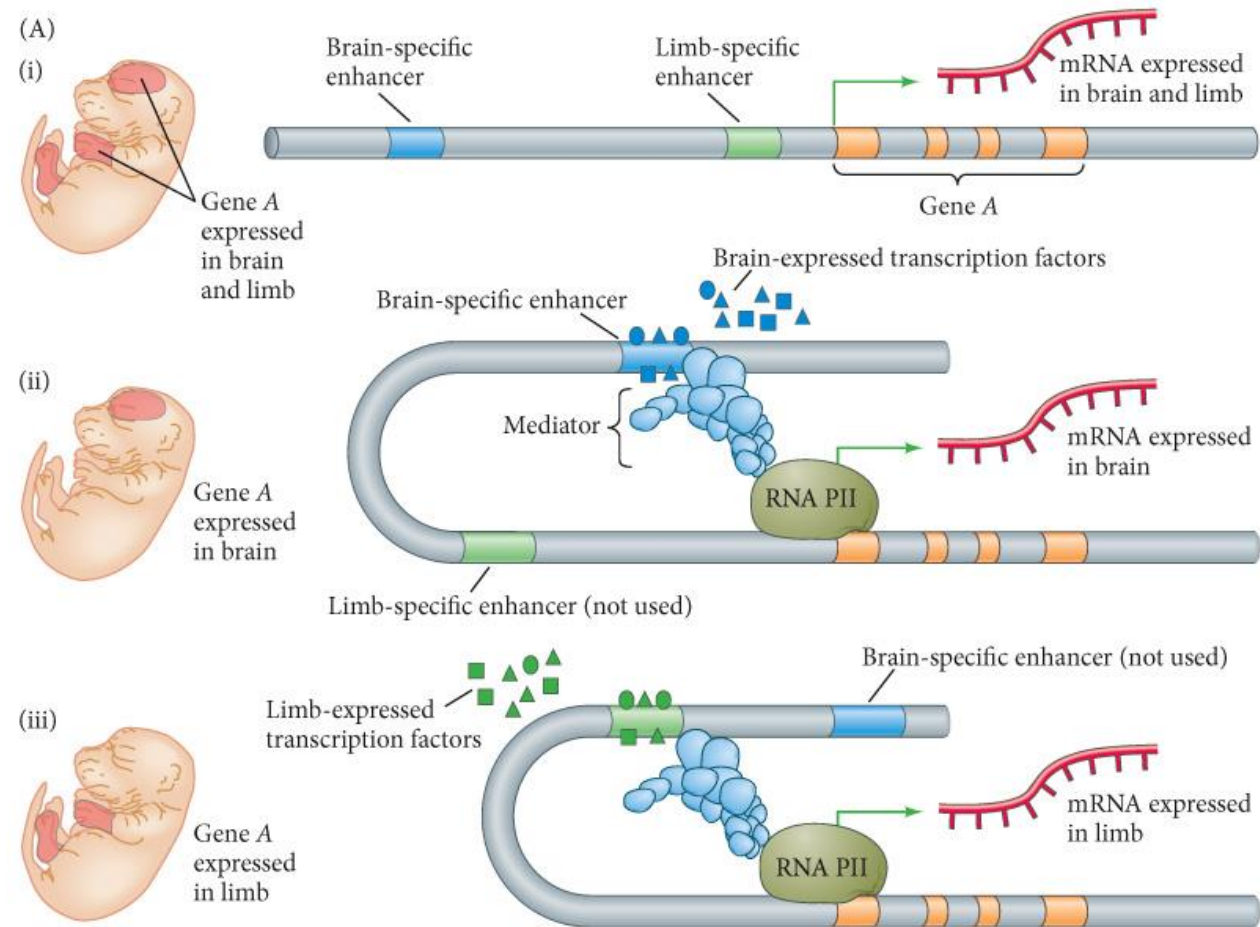
β -galactosidase





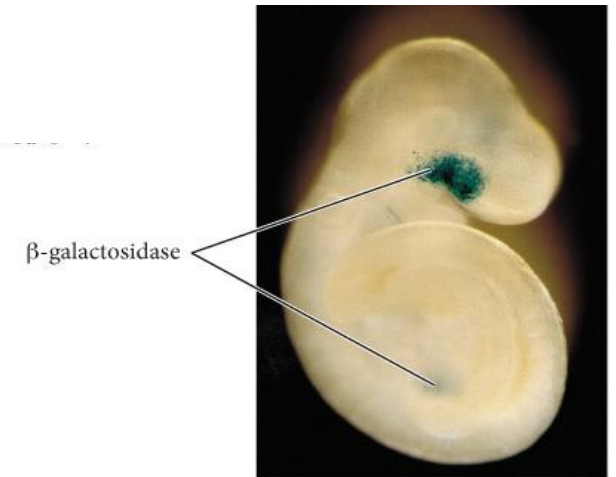
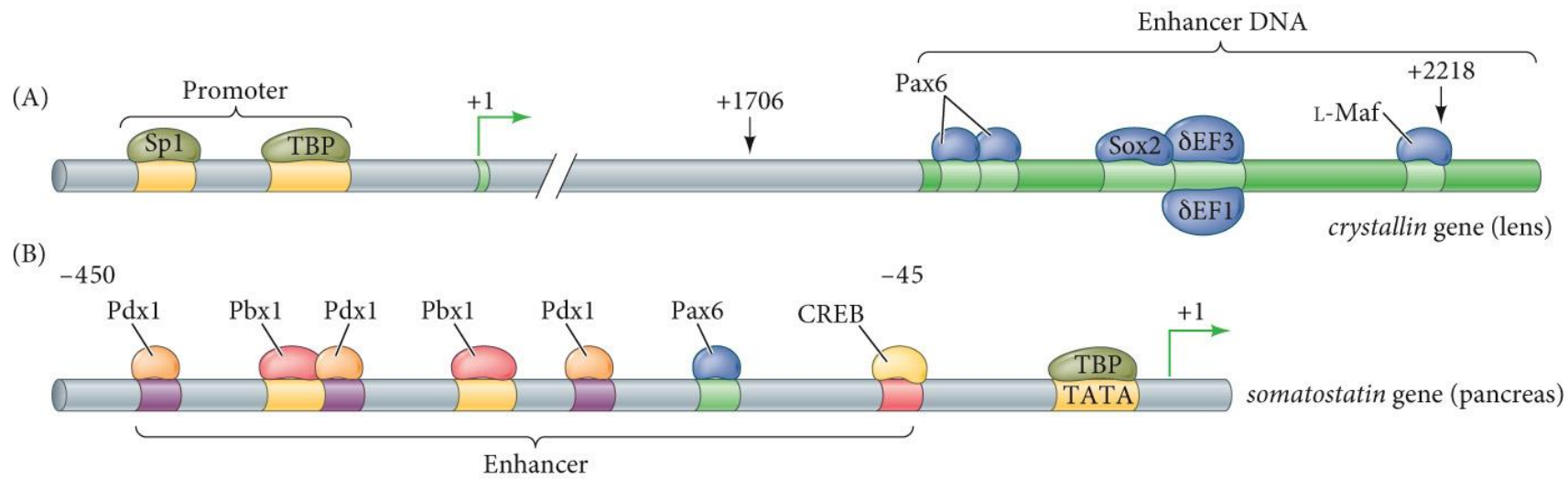
DEVELOPMENTAL BIOLOGY 11e, Figure 3.10
 © 2016 Sinauer Associates, Inc.

A combinação *enhancer* + fatores transcrição garante que um dado gene seja expresso em uma célula específica:



Modularidade de enhancers

Associação combinatória de fatores de transcrição



O papel das sequências silenciadoras

Promotor L1 – promotor do gene L1, específico de neurônios

Que tipo de fator deve se ligar na sequência NRSE?

Um silenciador

Por que?

Porque a deleção dessa sequência resulta na expressão de β -gal e vários outros tipos celulares

Quais células expressam esse fator?

Todas menos os neurônios

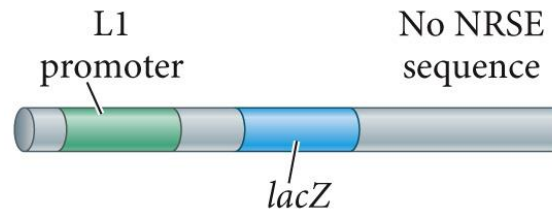
NRSE = Neural restrictive silencer elemento

NRSF = neural restrictive silencer factor

(A)



(B)



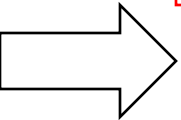
DEVELOPMENTAL BIOLOGY 11e, Figure 3.12
© 2016 Sinauer Associates, Inc.

Elementos gênicos regulatórios

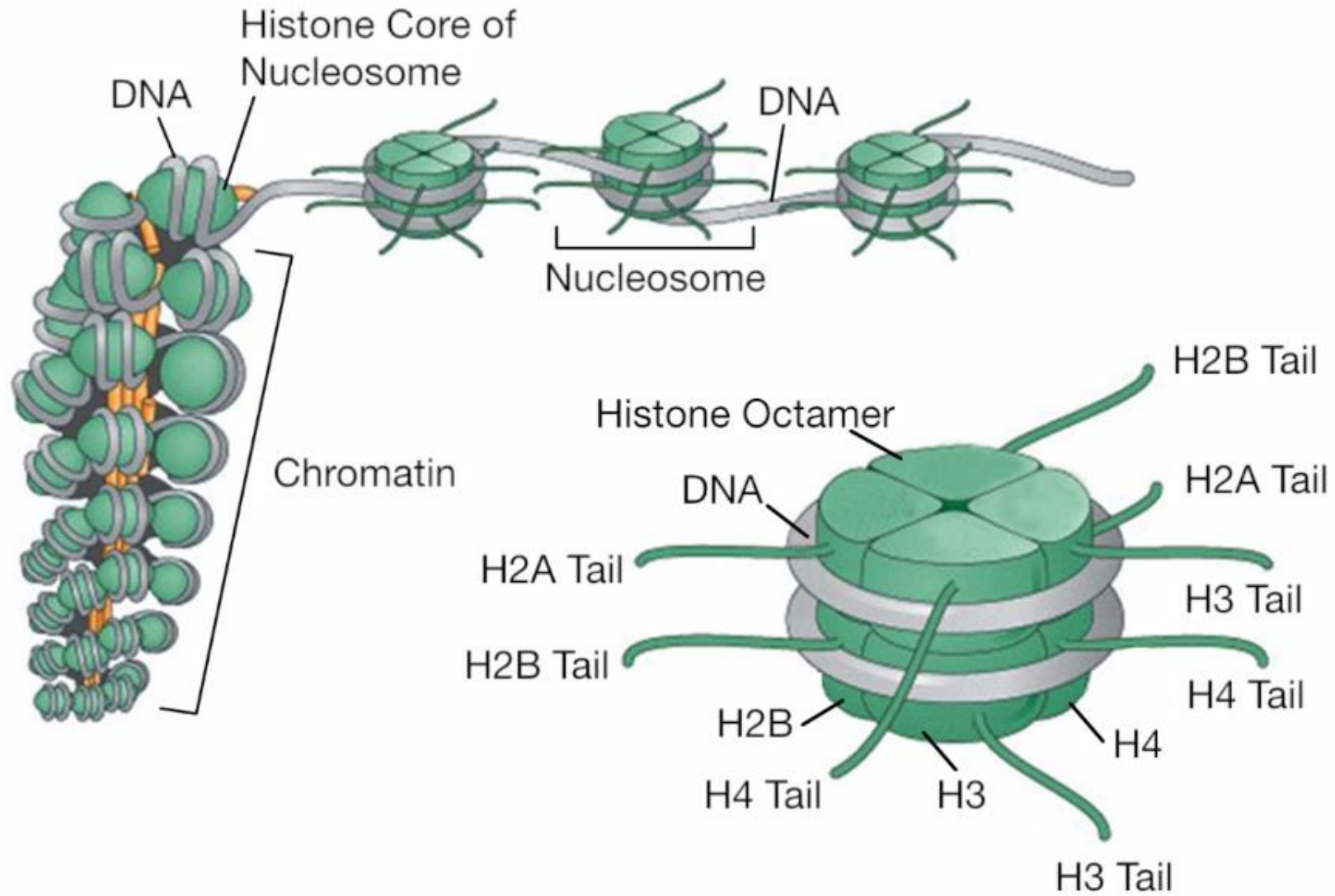
- Sequências ***enhancer*** e **silenciadoras** permitem que determinados genes usem uma combinação de vários **fatores de transcrição** para controlar a sua expressão

Perguntas

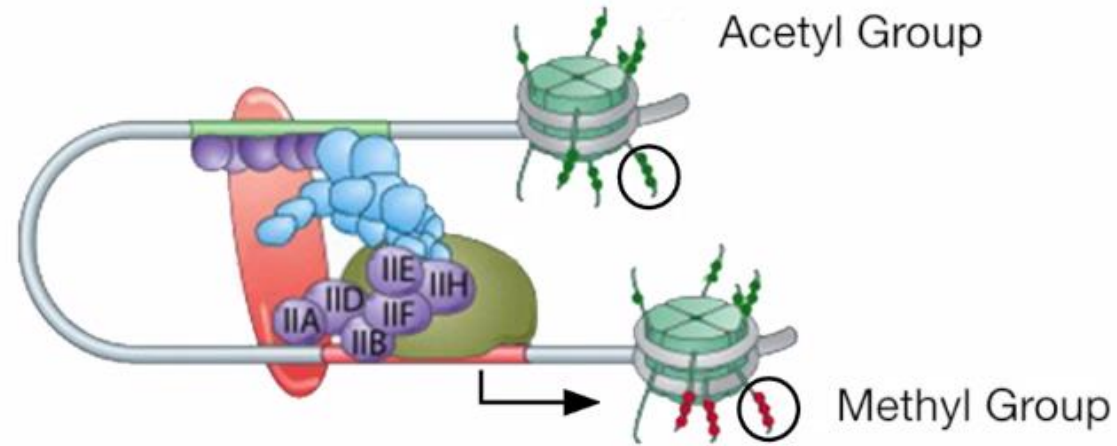
1. O que gera assimetria dentro de uma única célula?
2. quais fatores do microambiente promovem a assimetria de duas células inicialmente idênticas?
3. Por que esses fatores atuam sobre uma das células e não sobre a outra?
4. Como esses fatores que geram assimetria promovem a diferenciação celular?
5. Como essa diferenciação é mantida no organismo?
6. A diferenciação é reversível ? Quão plástica ela é?



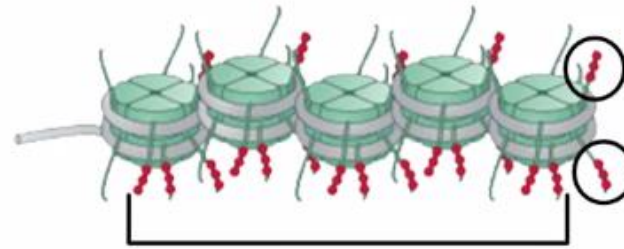
DNA, histonas e nucleossomos



Regulação da cromatina

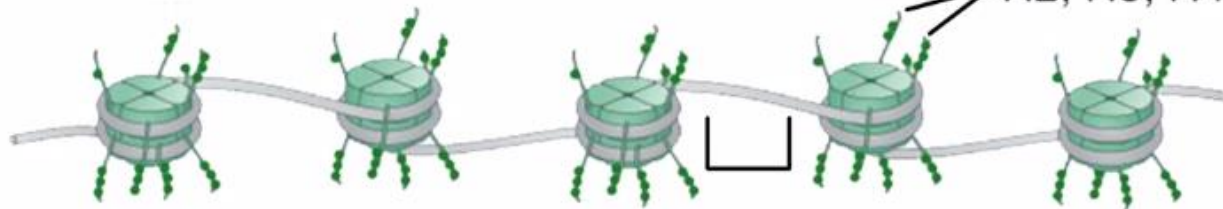


Cromossomos condensados



H3, H4 Tails Methylated

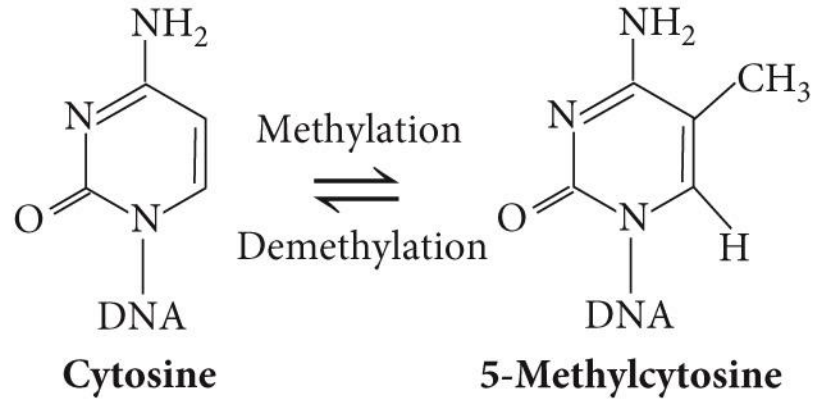
Cromossomos descondensados



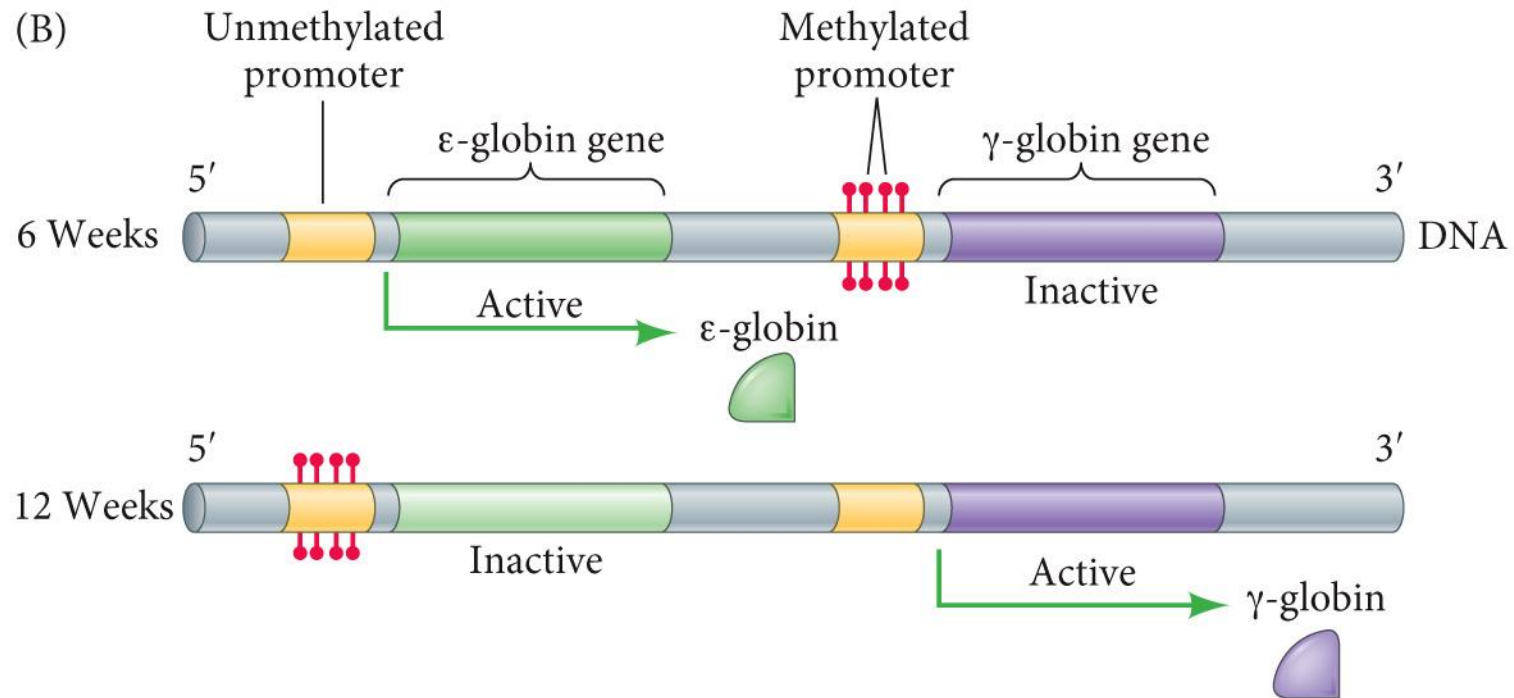
H2, H3, H4 Tails Acetylated

Exemplo:

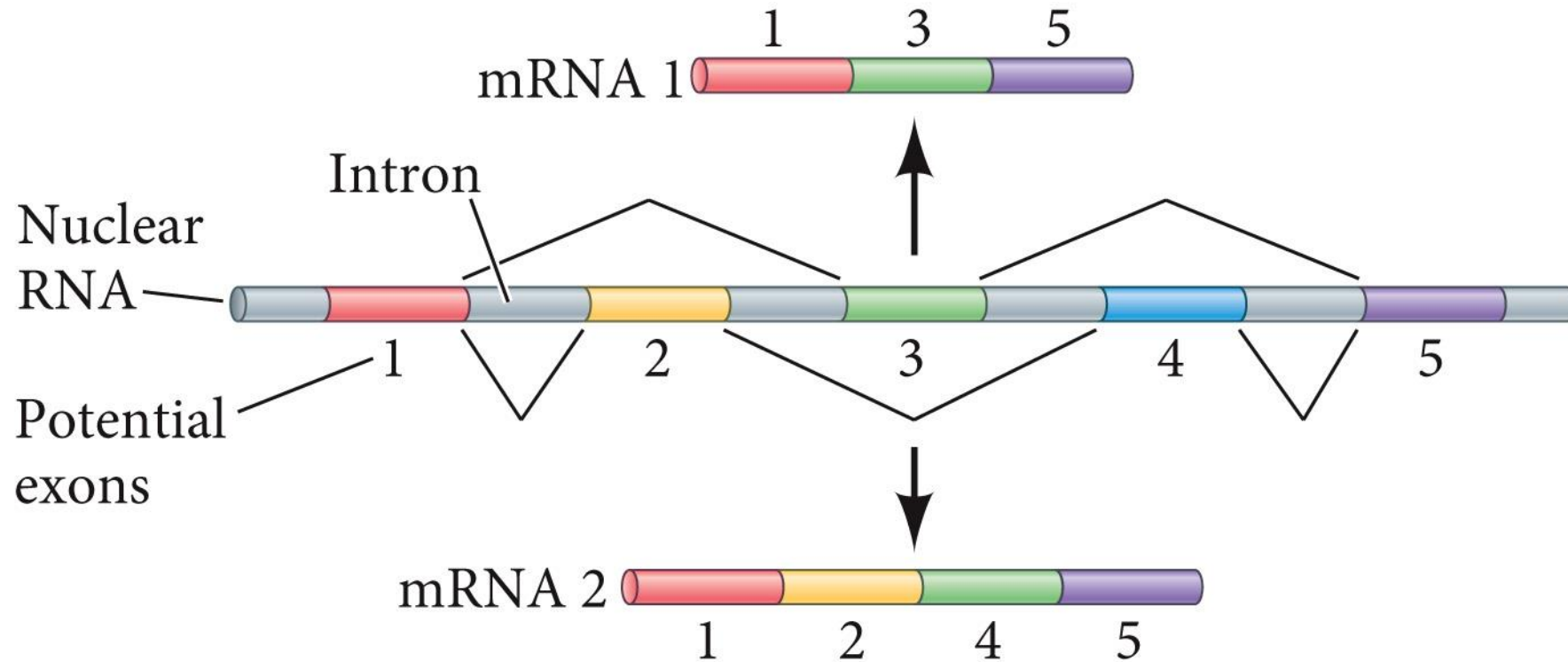
(A)



(B)

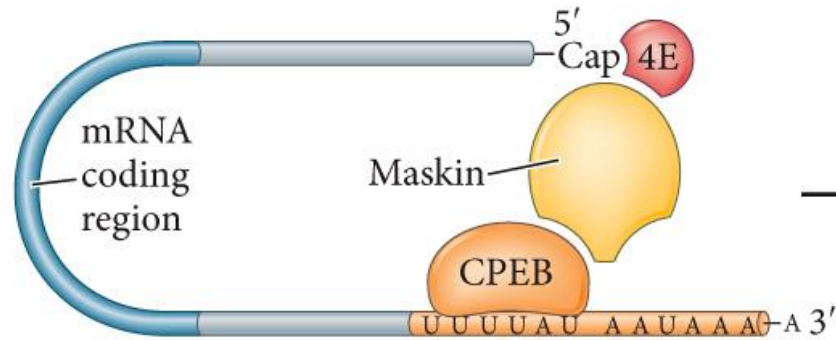


Processamento diferencial de RNA

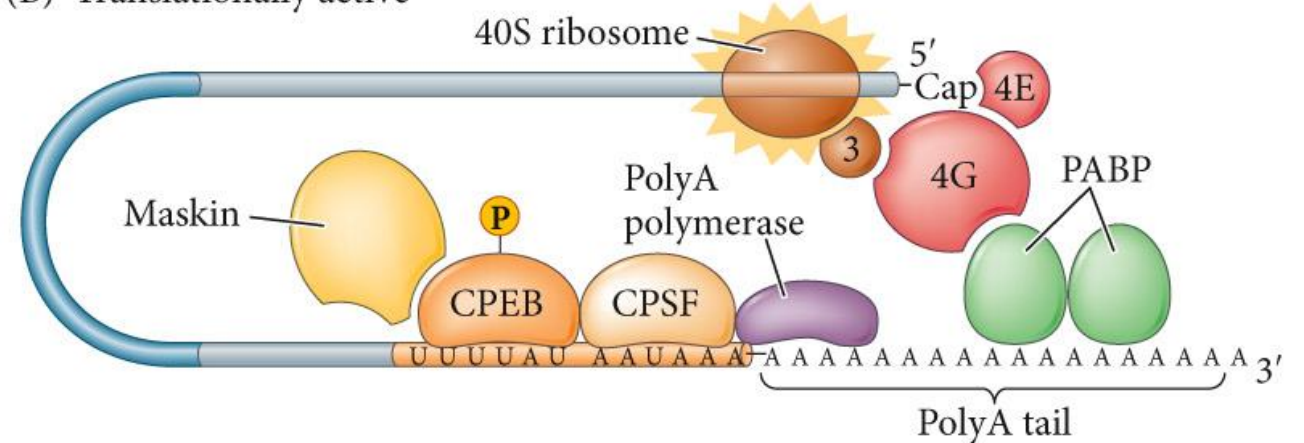


Controle da tradução de proteínas

(A) Translationally dormant



(B) Translationally active



DEVELOPMENTAL BIOLOGY 11e, Figure 3.29

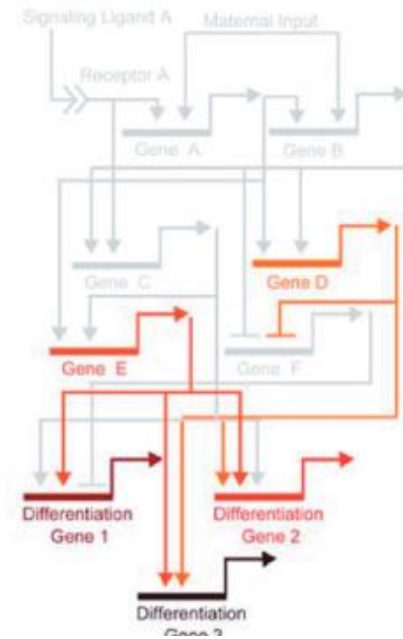
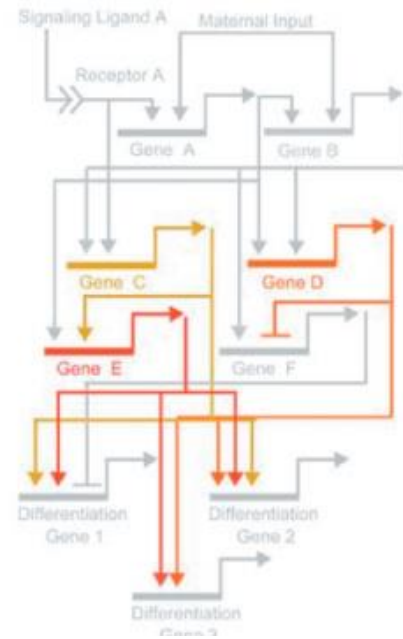
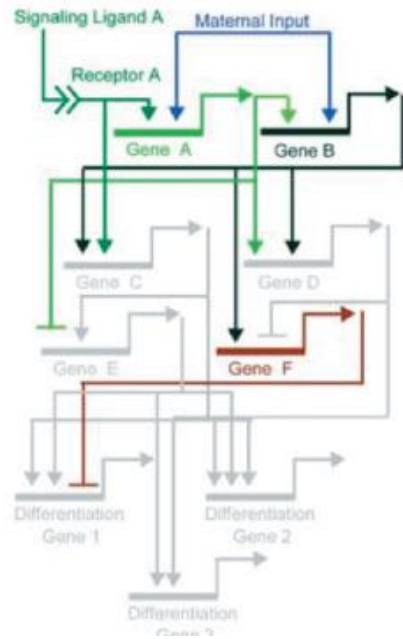
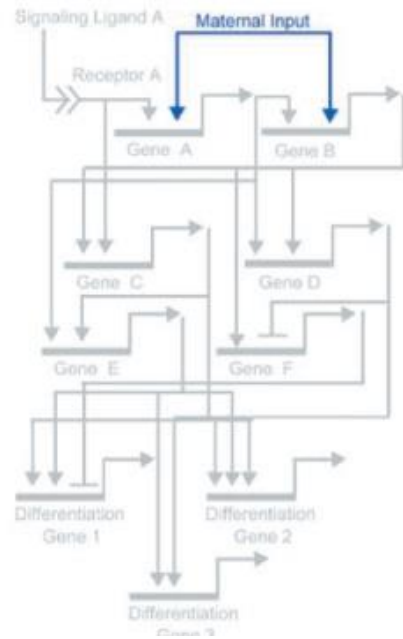
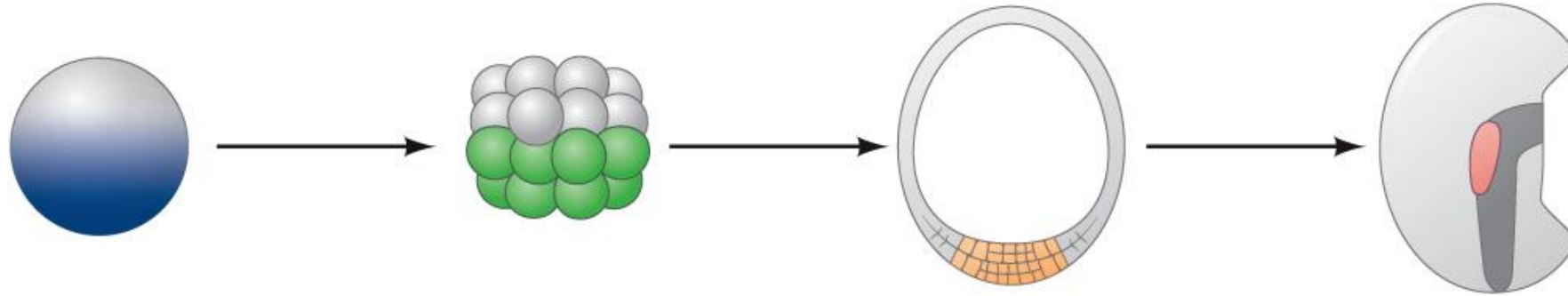
© 2016 Sinauer Associates, Inc.

Genes e proteínas são regulados em diferentes níveis

- Alterações na cromatina
- Transcrição gênica
- Processamento de RNA (splicing, meia-vida)
- Síntese proteica (taxa de síntese)
- Meia-vida de proteínas
- Modificações pós-traducionais
- Localização subcelular (moléculas podem estar restritas espacialmente na célula)

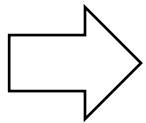
Rede regulatória de genes

(A)

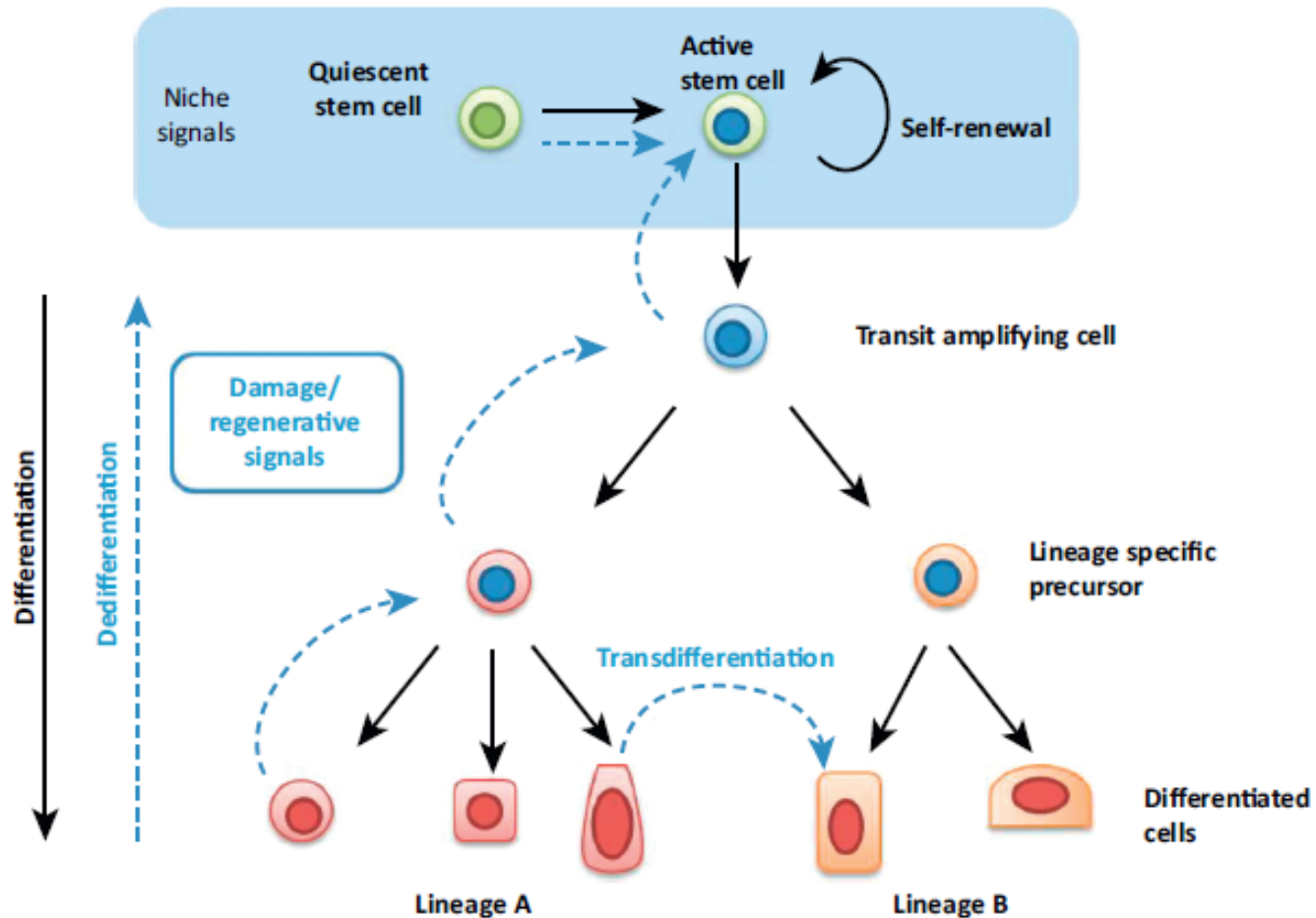


Perguntas

1. O que gera assimetria dentro de uma única célula?
2. quais fatores do microambiente promovem a assimetria de duas células inicialmente idênticas?
3. Por que esses fatores atuam sobre uma das células e não sobre a outra?
4. Como esses fatores que geram assimetria promovem a diferenciação celular?
5. Como essa diferenciação é mantida no organismo?
6. A diferenciação é reversível ? Quão plástica ela é?



Plasticidade das células-tronco

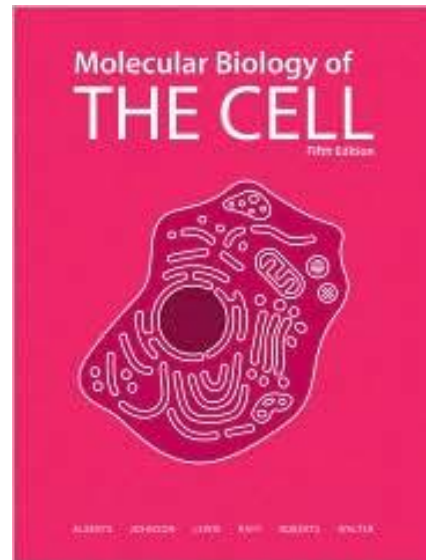
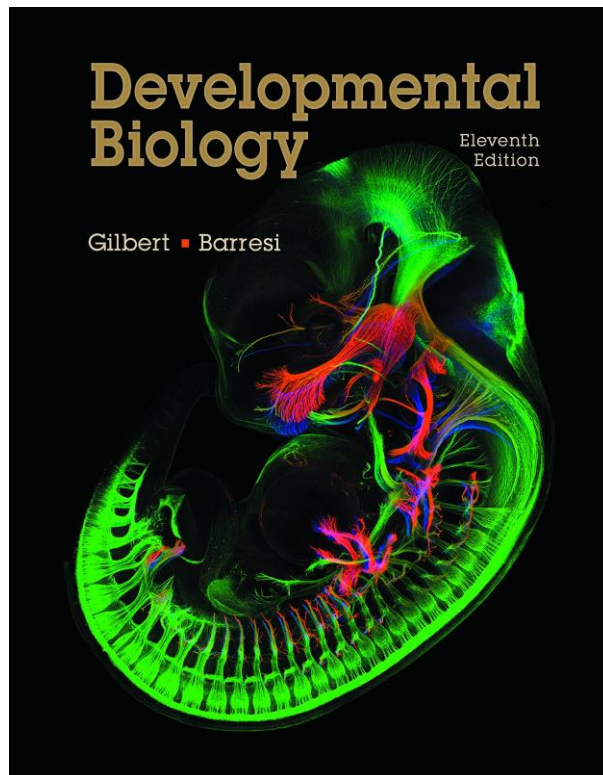


Para saber mais:

<https://sophia.smith.edu/blog/barresilab/devidetorials/#stem-cell-basics>

<https://sophia.smith.edu/blog/barresilab/devidetorials/#differential-gene-expression>

Capítulos 3 e 5



Cap 22

Development of Multicellular Organisms **SÓ EM PDF**

Cap 23

Specialized Tissues, Stem Cells, and Tissue Renewal **SÓ EM PDF**



Nathalie
ncella@usp.br