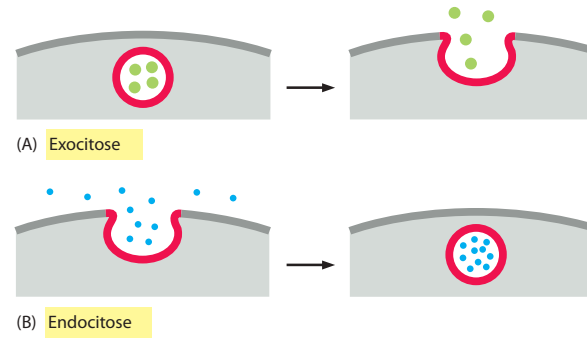


Exocitose

- Entrega de biomoléculas (proteínas, carboidratos, lipídeos) para a membrana plasmática ou espaço extracelular

Endocitose

- Remoção de componentes da membrana e entrega para compartimentos internos

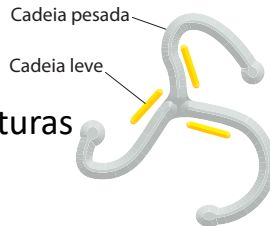


A vesícula transportadora é seletiva

- Clatrina (a partir do complexo de Golgi e membrana)
- COPI } a partir do RE e cisternas de Golgi
- COPII }

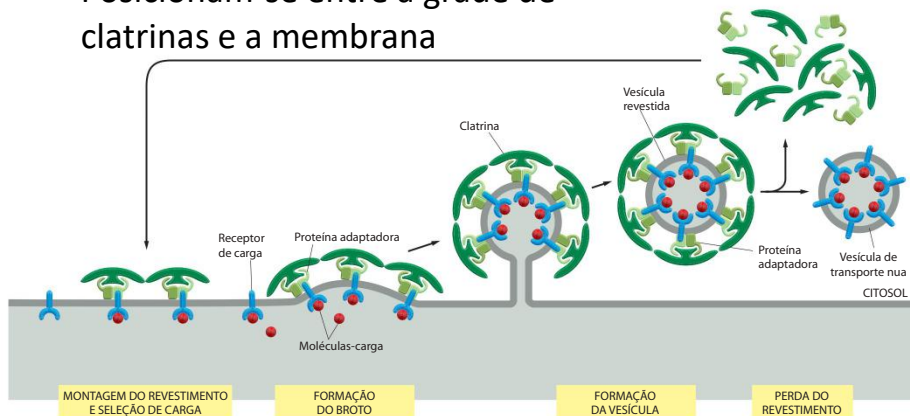
Clatrin

- 6 cadeias polipeptídicas (3 pesadas + 3 leves)
- Estrutura de 3 pernas (trisquelion)
- Trisquelion se organizam em estruturas complexas que formam gaiolas



Proteínas adaptadoras

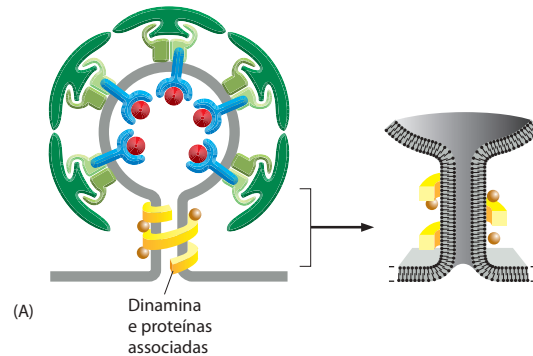
- Posicionam-se entre a grade de clatrin e a membrana



Tráfego Intracelular de Vesículas

Dinamina

- liga-se a um broto em formação na membrana e se estabelece em um anel ao redor do pescoço do brotamento
- desestabilizam a membrana, de forma que as lâminas não-citoplasmáticas das bicamadas lipídicas se fundam



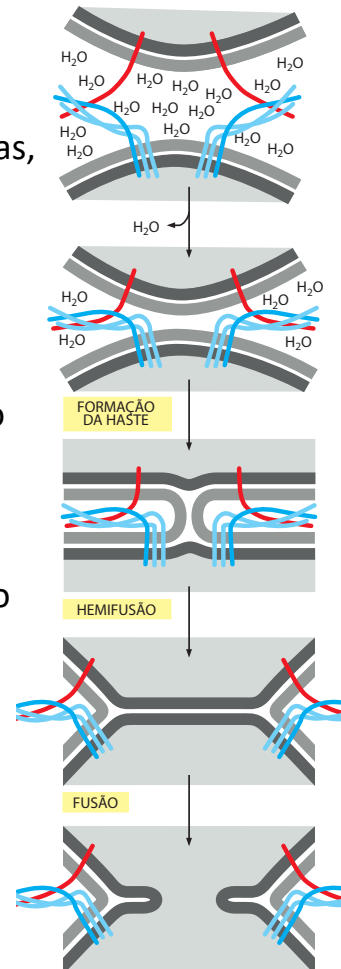
Proteínas Rab

- Função central na especificidade da vesícula
- +60 membros na família
- GTPase monoméricas
- Interagem com “efetores de Rab” na membrana da organela-alvo

SNAREs

<https://www.youtube.com/watch?v=jQJAIpuqt4Q>

- Catalisam a fusão das membranas no transporte vesicular
- 35 SNAREs diferentes nas células, cada uma associada a uma organela
- SNAREs e Rab favorecem a especificidade das vesículas
Ex: v-SNARE → vesícula
t-SNARE → membrana-alvo
- v- e t-SNAREs interagem num complexo tipo “coiled-coil” (trans-SNARE)
- Proteína NSF desfaz o complexo trans-SNARE (processo dependente de ATP)



Conversão de energia (produção de ATP)

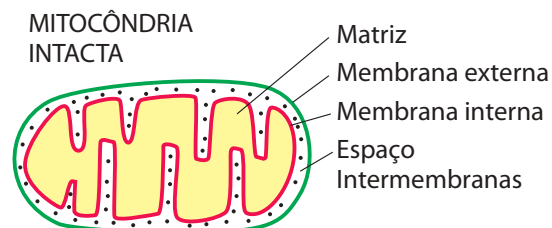
- **procaríotos** utilizam a membrana plasmática para produzir ATP
- **eucariotos** utilizam organelas conversoras de energia (e.g., mitocôndria, cloroplastos)

Acoplamento quimiosmótico

- reações de formação de ligações químicas que geram ATP (“quimi”) e os processos de transporte através de membranas (“osmótico”)
- Processo em dois estágios:
 1. transferência de e^- libera energia que é utilizada para bombear H^+ através da membrana (gradiente eletroquímico de prótons)
 2. refluxo de H^+ em favor do gradiente eletroquímico através de da ATP-sintase (síntese de ATP)

Mitocôndrias

- produção de 15 vezes mais ATP do que seria fornecido exclusivamente pela glicólise
- organelas móveis e plásticas, mudam de maneira constante as suas formas
- contém uma membrana externa, uma membrana interna e dois compartimentos internos (espaço interno da matriz e o espaço intermembranas)
- membrana externa contém várias moléculas de porinas
- membrana interna e matriz são as parte mais funcionais da mitocôndria
- membrana interna é retorcida, formando uma série de reentrâncias, chamadas de cristas

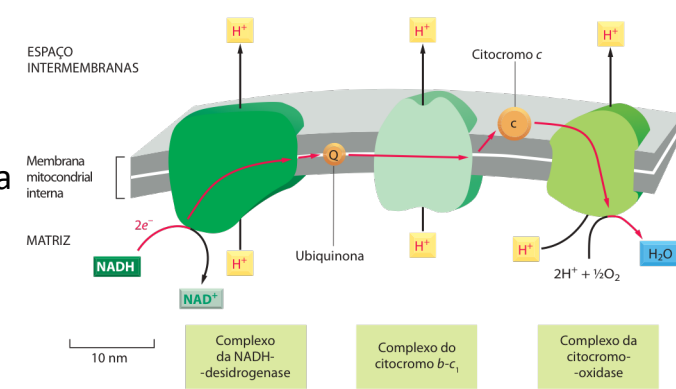


Fosforilação oxidativa

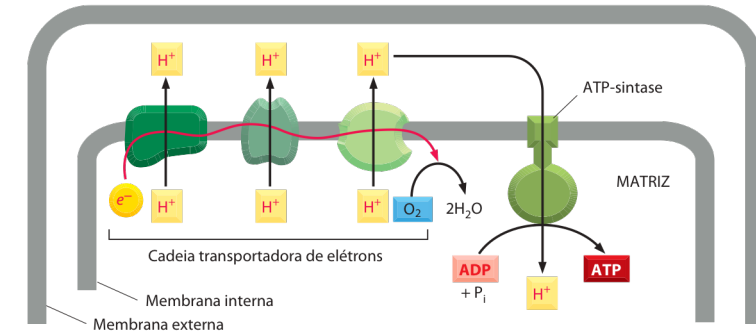
- Ocorre na membrana interna que capta grandes quantidades de energia, armazenada na forma de NADH e $FADH_2$, e liberada para promover a conversão de $ADP + P_i$ em ATP

Cadeia transportadora de elétrons

- Gradiente de prótons direciona a síntese de ATP
- <https://www.youtube.com/watch?v=rdF3mnyS1p0>



Energética celular: mitocôndrias, cadeia de transporte de elétrons



ATP sintase

- **ATP-sintase** ligada à membrana interna permite que H^+ fluam a favor do seu gradiente eletroquímico. À medida que os H^+ atravessam a ATP-sintase, eles são utilizados para dirigir a reação energeticamente desfavorável entre ADP e P_i para produzir ATP
- proteína de múltiplas subunidades com uma massa de mais de 500 KDa que funciona por catálise rotatória (“dínamo”)
- a energia do fluxo de prótons a favor do gradiente é convertida em energia mecânica de dois conjuntos de proteínas que realizam atrito uma contra a outra: as proteínas da haste giratória empurrando um anel estacionário de proteínas da cabeça;
- ATP-sintase é capaz de produzir mais de 100 moléculas de ATP por segundo, gerando 3 moléculas de ATP por rotação

<https://www.youtube.com/watch?v=WzqVu8OWedo>

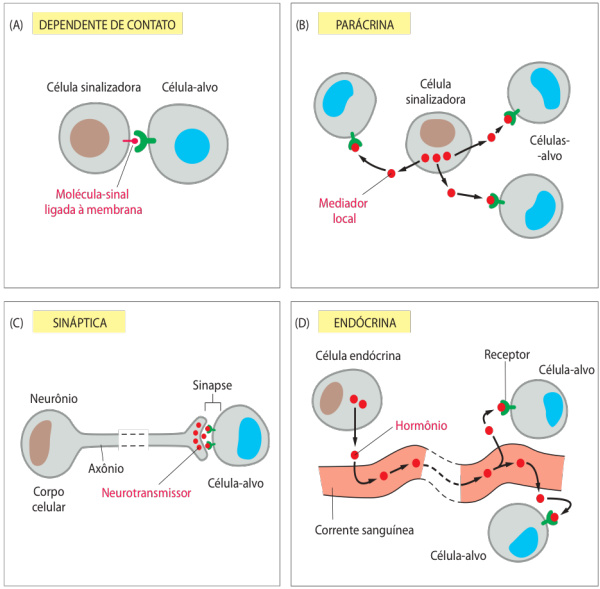
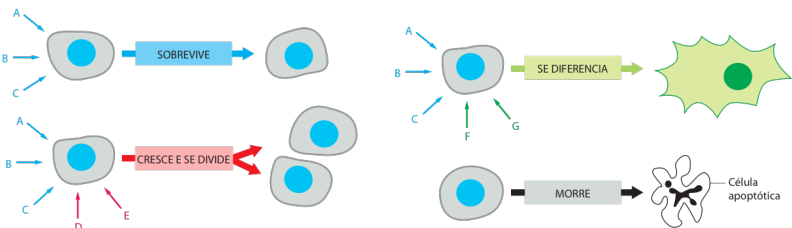
https://www.youtube.com/watch?v=b_cp8MsnZFA

Mecanismos da Comunicação Celular

- A comunicação entre as células é mediada, principalmente, por **moléculas-sinal extracelulares ou simplesmente “ligantes”** (proteínas, peptídeos pequenos, aminoácidos, nucleotídeos, esteroides, derivados de ácidos graxos, NO e CO).
- Os ligantes interagem com receptores específicos na membrana celular
- Algumas delas atuam a longas distâncias (comunicação endócrina), sinalizando para células distantes; outras sinalizam apenas para células vizinhas (comunicação parácrina, dependente de contato ou sináptica), ou para a própria célula (comunicação autócrina).
- Cada célula está programada para responder a combinações específicas de ligantes extracelulares

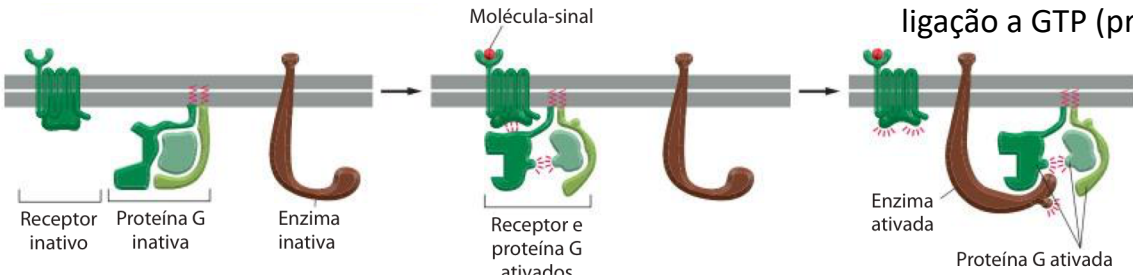
Os receptores nucleares são proteínas reguladoras gênicas moduladas por ligantes

- localizados no interior das células e controlam a transcrição de genes específicos.

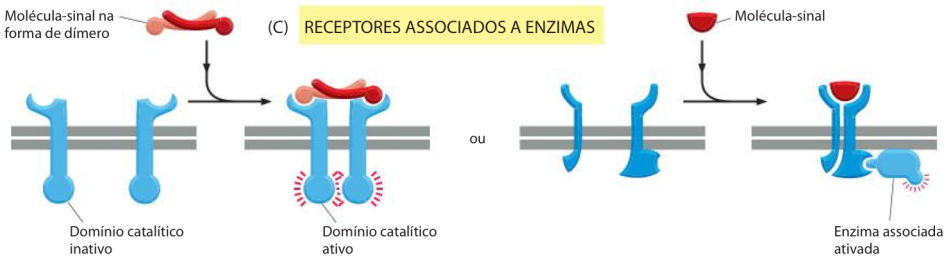


Sinalização celular – Princípios gerais

(B) RECEPTORES ASSOCIADOS À PROTEÍNA G



(C) RECEPTORES ASSOCIADOS A ENZIMAS

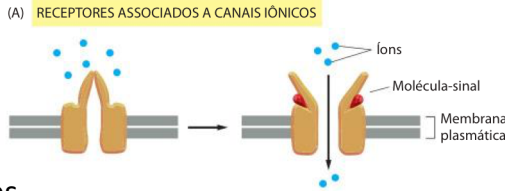


Receptores associados a canais iônicos, receptores associados a proteínas G (GPCRs) e as enzimas são as três maiores classes de receptores de superfície celular

- Ligantes extracelulares interagem com receptores específicos na superfície das células-alvo e não entra no citosol ou no núcleo
- Esses receptores funcionam como transdutores de sinal, ou seja, convertem o um evento extracelular de interação com o ligante em sinais intracelulares que alteram o comportamento da célula-alvo

1. Receptores associados a canais iônicos

- envolvidos na sinalização sináptica rápida entre as células nervosas e outras células-alvo eletricamente excitáveis
- Sinalização é mediada por neurotransmissores que abrem ou fecham um canal iônico alterando a permeabilidade da membrana plasmática aos íons



2. Receptores associados à proteína G (GPCRs)

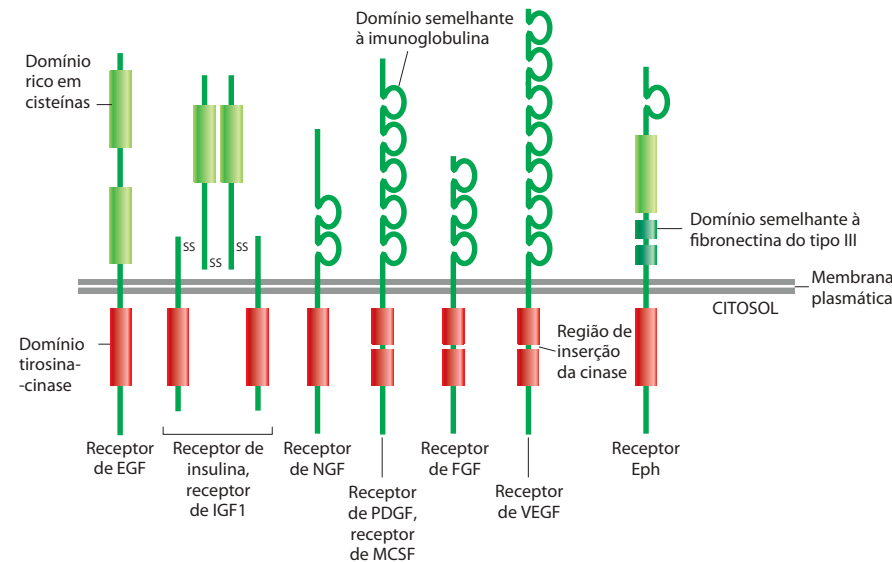
- atuam indiretamente na regulação da atividade de uma proteína-alvo ligada à membrana plasmática
- A interação entre o receptor e essa proteína-alvo é mediada por uma terceira proteína, chamada de proteína trimérica de ligação a GTP (proteína G)

3. Receptores associados à enzimas (quinasas)

- quando ativados, funcionam diretamente como enzimas, ou estão associados diretamente a enzimas ativadas por eles
- Representada por kinases ou proteínas associadas a kinases, quando ativados, fosforilam grupos específicos de proteínas na célula-alvo.

Receptores associados a enzimas

- proteínas transmembrana com seu domínio de interação com o ligante localizado na superfície externa da membrana plasmática
- Domínio citosólico, associa-se diretamente a uma enzima, ou tem atividade enzimática intrínseca

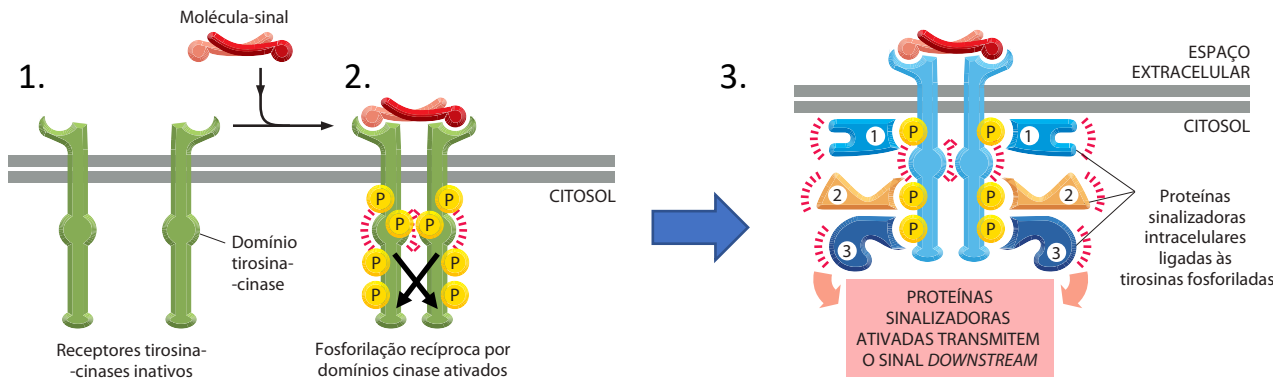


Existem seis classes de receptores associados a enzimas:

1. Tirosina kinases (RTK)
2. Associados à tirosina kinase
3. Serina-treonina kinase

Como a interação com um ligante extracelular ativa o domínio kinase intracelular?

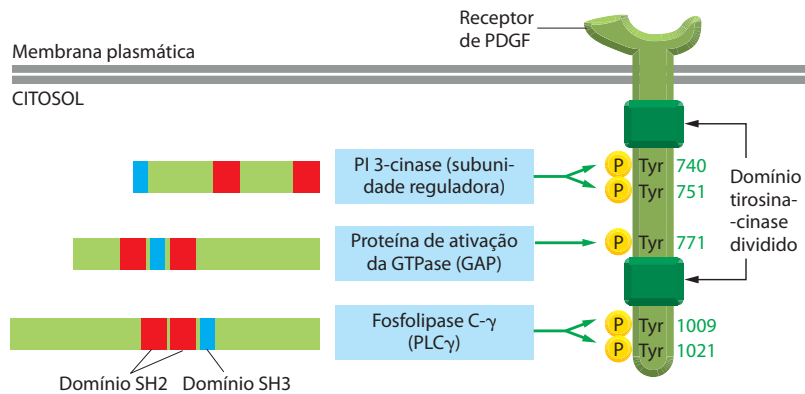
1. Interação com o ligante induz a dimerização dos RTKs
2. Transautofosforilação: RTKs se tornam ativados e fosforilam reciprocamente múltiplas tirosinas
3. Tyr fosforiladas nos receptores tirosina-cinases servem como sítios de ancoragem para proteínas de sinalização intracelular



Sinalização celular – receptores de superfície

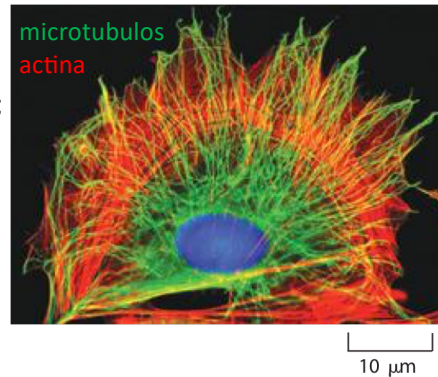
Proteínas com domínios SH2 se ligam às tirosinas fosforiladas

- Proteínas de sinalização intracelular que se ligam às fosfotirosinas dos RTKs ativados e das proteínas de ancoragem têm estruturas e funções variadas
- Contudo, elas geralmente compartilham domínios de ligação à fosfotirosina altamente conservados (domínios SH2 ou PTB)
- domínios SH2 e SH3 e funcionam como adaptadoras no acoplamento de proteínas fosforiladas com outras proteínas que não possuem seus próprios domínios SH2



Citoesqueleto

- sistema de filamentos que possui **funções estruturais e mecânicas**
- separa os cromossomos durante a mitose e divide a célula em duas;
- guia e **direciona o tráfego intracelular** de organelas;
- dá **suporte mecânico** à membrana plasmática e **resistência** a estresses e esforços;
- permite que células possam nadar (espermatozóides) ou deslizar sobre superfícies (fibroblastos e os leucócitos)
- proporciona a **contração das células musculares** e permite aos neurônios que estendam seus axônios e dendritos

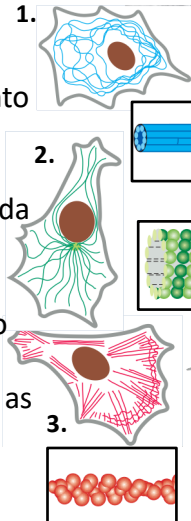


Cada tipo de filamento do citoesqueleto é construído a partir de subunidades proteicas menores

- **filamentos intermediários**: formados a partir de subunidades fibrosas e longas
 - **filamentos de actina** (subunidades de actina) e os **microtúbulos** (subunidades de tubulina) são compostos por subunidades globulares e compactas
- <https://www.youtube.com/watch?v=tO-W8mvBa78>

Três tipos de filamentos do citoesqueleto são responsáveis pela organização espacial e propriedades mecânicas da células

1. **filamentos intermediários** proporcionam resistência mecânica
 2. **microtúbulos** determinam o posicionamento de organelas delimitadas por membrana e direcionam o transporte intracelular;
 3. **filamentos de actina** determinam a forma da superfície celular e são necessários à locomoção da célula como um todo
- **proteínas acessórias** são essenciais para o controle da montagem dos filamentos do citoesqueleto em locais definidos e inclui as proteínas motoras

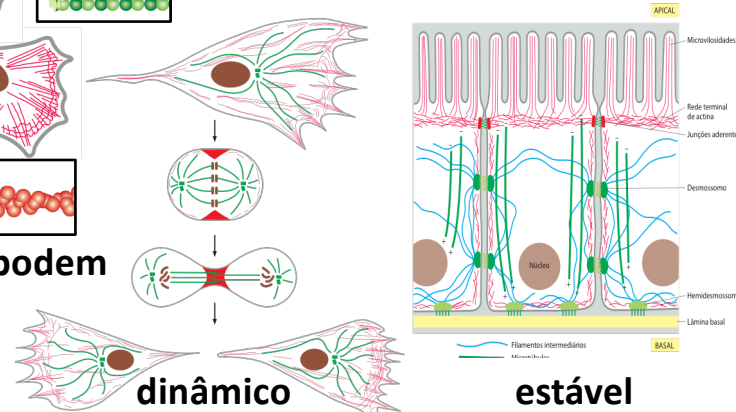


Citoesqueleto:
dinâmica e regulação

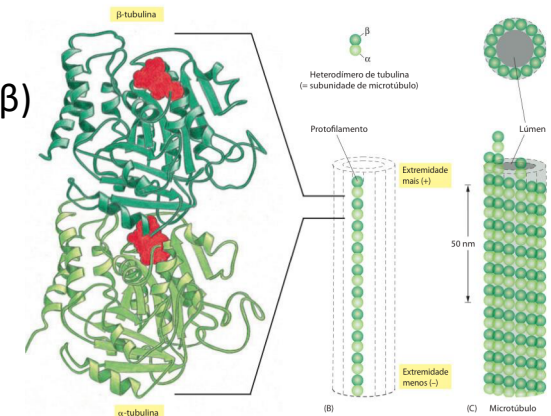
microtubulos
actina
Filamentos intermediários

Filamentos do citoesqueleto são dinâmicos e adaptativos, mas também podem formar estruturas estáveis

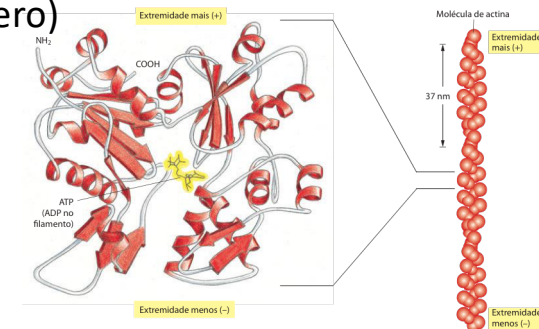
<https://www.youtube.com/watch?v=Kb-m1uDoWfU>



Tubulina
(dímero α/β)



Actina
(monômero)

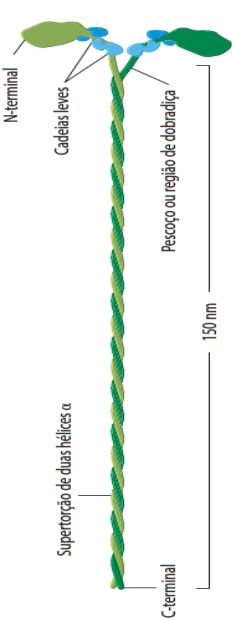


Proteínas motoras

- Ligam-se a um filamento polarizado do citoesqueleto e utilizam a energia derivada de ciclos repetidos de hidrólise de ATP para se deslocarem uniformemente ao longo do filamento.
- transportam organelas delimitadas por membrana (mitocôndrias, pilhas de Golgi, vesículas secretoras) rumo a sua posição adequada dentro da célula.
- fazem com que os filamentos do citoesqueleto exerçam tensão ou deslizem uns sobre os outros, gerando a força necessária para fenômenos como a contração muscular, o batimento de cílios e a divisão celular
- geram movimento pelo acoplamento da hidrólise de trifosfatos de nucleosídeo a mudanças conformacionais em larga escala

Proteínas motoras – Estrutura & Função

- “cabeça” ou domínio motor (direção do movimento) – liga-se e hidrolisa ATP que produz energia para as alterações na conformação (estados fortemente ligados aos filamentos e estados desconectados)
- Proteína motora e sua carga associada movem-se, um passo por vez, ao longo do filamento em 5 etapas:
 1. ligação ao filamento;
 2. alteração da conformação;
 3. liberação do filamento;
 4. relaxamento conformacional;
 5. religação ao filamento
- “Cauda” (identidade da carga) determina a função biológica de uma proteína motora específica

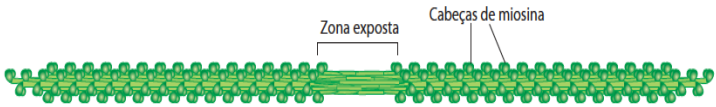


Citoesqueleto: motores moleculares

Miosina (interage com actina)

- Responsável pela geração de força para a contração muscular
- proteína longa formada por duas cadeias pesadas e quatro cadeias leves
- interações cauda-cauda levam à formação de um grande “filamento espesso” bipolar que apresenta várias
- centenas de cabeças de miosina

<https://www.youtube.com/watch?v=ousflrOzQHc>



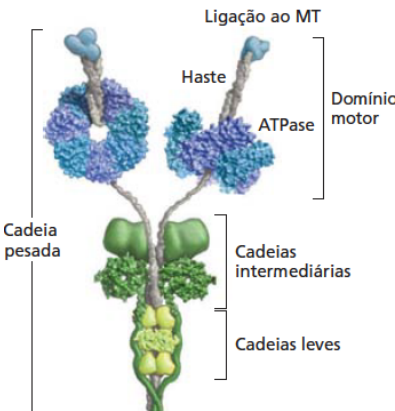
Cinesinas e Dineínas (interagem com microtúbulos)

- **Cinesina:** estrutura similar à da miosina II, com duas cadeias pesadas e duas cadeias leves por motor ativo
- possui um sítio de ligação em sua cauda que pode ser usado para conectar a uma organela delimitada por membrana ou a um outro microtúbulo



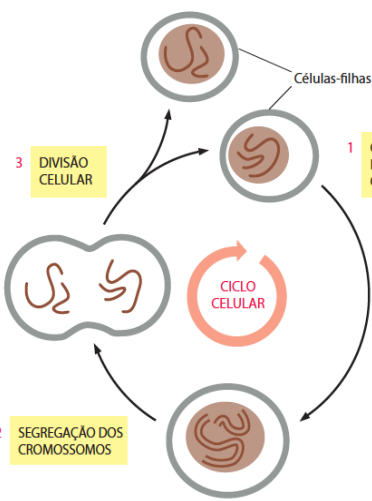
- caminha em direção à extremidade mais (+) do microtúbulo
- <https://www.youtube.com/watch?v=gbycQf1TbM0>

- **Dineínas:** compostas por duas ou três cadeias pesadas (onde se inclui o domínio motor) e um grande e variado número de cadeias intermediárias e cadeias leves associadas.
- Caminha em direção a extremidade menos (–) do microtúbulo
- *Dineínas citoplasmáticas* são homodímeros de cadeia pesada, com dois grandes domínios motores como cabeças e importantes para o trânsito de vesículas e posicionamento do aparelho de Golgi
- *Dineínas do axonema ou ciliares* incluem heterodímeros e heterotrímeros, com duas ou três cabeças de domínio motor (direciona o batimento de cílios e flagelos)



Ciclo Celular

- sequência organizada de eventos em que a célula duplica seu conteúdo e então se divide em duas (**duplicação e divisão**)
- mecanismo essencial pelo qual todos os seres vivos se reproduzem
- Seres unicelulares → cada divisão celular produz um novo organismo completo
- Seres multicelulares → sequências longas e complexas de divisões celulares são necessárias para a produção de um organismo funcional



Sistema de controle do ciclo celular

- série ordenada de mudanças bioquímicas que iniciam os principais eventos do ciclo
- níveis adicionais de regulação aumentam a fidelidade da divisão celular
- monitora a progressão do ciclo celular, retardando eventos posteriores até que eventos anteriores tenham sido completados
- ativa a progressão do ciclo celular em três principais pontos de transição reguladora, ou pontos de verificação:
 1. Início (ou ponto de restrição) no final de G1;
 2. ponto de verificação G2/M;
 3. transição entre metáfase e anáfase;
- O sistema de controle bloqueia a progressão a cada um desses pontos de verificação se detecta problemas dentro ou fora da célula

Transmissão da informação genética à próxima geração de células

1. Replicação: DNA de cada cromossomo é fielmente replicado
2. Segregação: cromossomos replicados são precisamente distribuídos
3. Divisão celular: cada célula-filha recebe uma cópia de todo o genoma

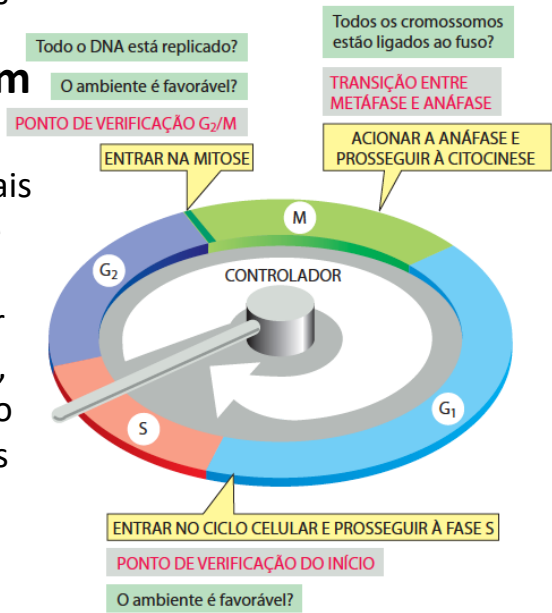
Obs: Além da duplicação do genoma, a maioria das células também duplica suas outras organelas e macromoléculas

Ciclo Celular

Ciclo celular eucariótico é dividido em quatro fases

- A maioria das células necessita de muito mais tempo para crescer e duplicar sua massa de proteínas e organelas do que o necessário para duplicar seus cromossomos e se dividir
- fase G₁ (ou G₀) é especialmente importante, pois monitora o ambiente interno e externo (verifica se as condições são adequadas e os preparativos estejam completos)

G₀ Estado estacionário do ciclo de divisão celular dos eucariotos
G₁ Fase 1 do ciclo de divisão celular
G₂ Fase 2 do ciclo de divisão celular das células eucarióticas
M cromossomos estão condensados e o núcleo e o citoplasma se dividem

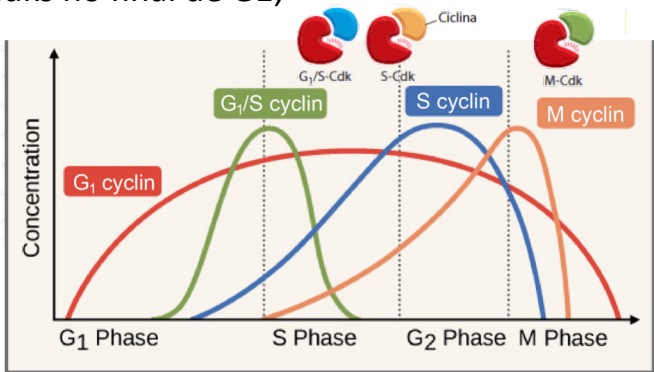


Sistema de controle depende de proteínas kinases dependentes de ciclinas (Cdks) ciclicamente ativadas

- Existem quatro classes de ciclinas:
 1. G₁/S-ciclinas (e G₁-ciclinas) ativam Cdks no final de G₁;
 2. S-ciclinas se ligam a Cdks logo após a progressão ao Início;
 3. M-ciclinas ativam Cdks que estimulam a entrada na mitose (G₂/M)

Os mecanismos que controlam as atividades dos complexos de ciclina-Cdk incluem:

1. fosforilação das Cdks, 2. ligação de proteínas inibidoras de Cdk (CKIs), 3. proteólise de ciclinas 4. mudanças na transcrição de genes reguladores de Cdks.



Apoptose ou morte celular programada / necrose

- células ativam um programa de morte intracelular e matam a si mesmas de uma maneira controlada;
- Células apoptóticas possuem morfologia específica:
 - células menores e condensadas,
 - citoesqueleto colapsado
 - o envelope nuclear desintegrado
 - cromatina nuclear condensada e fragmentada
- células apoptóticas tornam-se quimicamente alteradas e são engolfada por uma célula vizinha ou macrófagos;
- A célula é rapidamente eliminada, sem causar uma resposta inflamatória prejudicial;
- **Necrose celular** morte acidental de células animais em resposta a uma injúria aguda, como um trauma ou a falta de suprimento de sangue;
- Células necrosadas se expandem e explodem, liberando seus conteúdos sobre os vizinhos e provocando uma resposta inflamatória.

A morte celular programada elimina células desnecessárias

- células morrem quando a estrutura formada por elas não é mais necessária;
- a morte celular ajuda a regular o número de células;
- processo de controle de qualidade no desenvolvimento, eliminando células que são anormais, posicionadas incorretamente, não-funcionais ou potencialmente perigosas;
- a morte e a divisão celular devem ser finamente reguladas para assegurar que estejam em exato equilíbrio

Células apoptóticas são bioquimicamente reconhecíveis

- células apoptóticas possuem características morfológicas e bioquímicas distintas das células normais;
- mudança especialmente importante ocorre na membrana plasmática de células apoptóticas: "flip" de fosfatidilserina → sinaliza para células vizinhas e macrófagos a fagocitarem a célula morta e bloqueia a inflamação

A apoptose depende de uma cascata proteolítica intracelular mediada por caspases

- família de proteases que têm uma cisteína no seu sítio ativo e clivam
- suas proteínas-alvo em ácidos aspárticos específicos.
- Caspases: “c” para cisteína e “asp” para ácido aspártico
- Caspases: sintetizadas na célula como precursores inativos e são ativadas apenas durante a apoptose.
- Existem duas principais classes de caspases apoptóticas:
 - caspases iniciadoras: iniciam o processo apoptótico (monômeros solúveis e inativos no citosol)
 - caspases executoras: dímeros inativos que após clivagem por uma caspase iniciadora sofre rearranjo conformacional e assume uma forma ativa
- > 1.000 proteínas que são clivadas por caspases durante a apoptose:
 - clivagem das lamínas nucleares provoca a degradação irreversível
 - clivagem da endonuclease inativa (ICAD) libera a endonuclease ativa (CAD) para fragmentar o DNA no núcleo da célula
 - clivagem dos componentes do citoesqueleto e proteínas de adesão célula-célula
- dois mecanismos de ativação: via extrínseca e via intrínseca ou mitocondrial

Receptores de morte na superfície celular ativam a via extrínseca e via intrínseca depende da mitocôndria

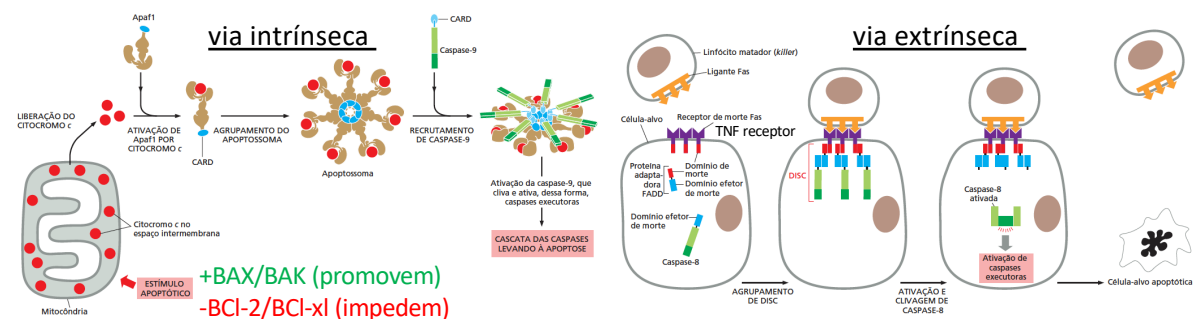
Apoptose

- A ligação de proteínas de sinalização extracelular (ligante de Fas) a receptores de morte (receptor de Fas) na superfície celular dispara a via extrínseca da apoptose. Essa via depende de proteínas adaptadora e caspase-8 que formam o complexo de sinalização indutor de morte (DISC)

- via intrínseca depende da liberação no citosol de proteínas mitocondriais (citocromo c) mediado pela ação de proteínas efetoras da família Bcl2. O citocromo c liga-se a Apaf1 e CARD para formar o apoptossoma que recruta caspase-9

<https://www.youtube.com/watch?v=-vmtK-bAC5E>

<https://www.youtube.com/watch?v=DR80Huxp4y8>

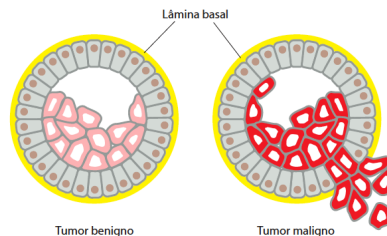
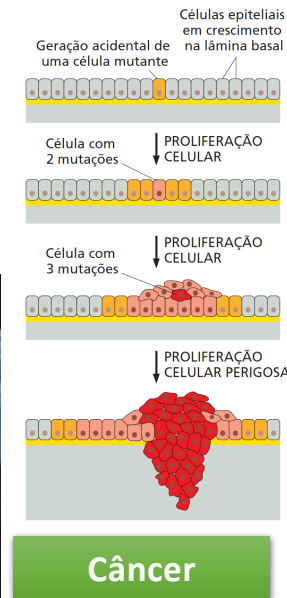
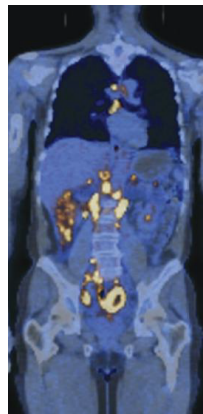


Câncer

- células mutação pode dar certa vantagem seletiva a uma célula, possibilitando que ela cresça e se divida mais vigorosamente e sobreviva mais facilmente que suas vizinhas;
- doença caracterizada por clones mutados que passa a prosperar às custas das células vizinhas e, por fim, os descendentes de tal clone levam à completa destruição da sociedade celular

Células cancerosas reproduzem-se desenfreadamente e colonizam outros tecidos

- definidas por duas propriedades hereditárias:
 - (1) reproduzem-se desobedecendo aos limites normais da divisão celular
 - (2) invadem e colonizam regiões normalmente destinadas a outras células
- Uma célula anormal que cresce (aumenta de massa) e prolifera (divide-se) fora de controle dará origem a um **tumor ou neoplasia**
 - **Tumor benigno:** células neoplásicas não invasivas
 - **Tumor maligno (câncer):** células que adquiriram a capacidade de invadir tecidos adjacentes
- A invasividade é uma característica das células cancerosas que permite penetração na corrente sanguínea ou os vasos linfáticos e a formação de tumores secundários, denominados **metástases**
- Os **tumores malignos** são classificados de acordo com os tecidos e os tipos celulares dos quais eles derivam:
 - **Carcinomas:** tumores derivados de células epiteliais
 - **Sarcomas:** tumores derivados do tecido conectivo ou de células musculares
 - **Leucemias e linfomas:** tumores derivados de células da linhagem branca ou de suas precursoras (células hematopoiéticas), assim como os cânceres derivados de células do sistema nervoso
- Os **tumores benignos** são classificados em:
 - **Adenoma:** tumor epitelial com uma estrutura do tipo glandular
 - **Condrioma:** tumor no tecido cartilaginoso



Células cancerosas possuem mutações somáticas

- Caso uma única célula anormal origine um tumor, ela deve transmitir essa anormalidade à sua progênie
- A aberração hereditária pode ser causada por uma **alteração genética** (alteração na sequência de DNA) ou **alteração epigenética** (alteração no padrão de expressão dos genes)
- Uma única mutação não é suficiente para causar câncer
- Evidências indicam que a gênese de um câncer necessita que vários acidentes raros e independentes uns dos outros ocorram na linhagem de uma célula
- o câncer é causado pelo acúmulo lento de um grande número de mutações aleatórias em determinada linhagem celular
- No caso dos cânceres que têm uma causa externa identificada, a doença em geral não é aparente até que tenha transcorrido um longo tempo após a exposição ao agente causal
- o desenvolvimento de um câncer requer um acúmulo gradual de mutações em um número de genes diferentes ajuda a explicar o fenômeno da progressão tumoral
- Em cada estágio da progressão, uma determinada célula individual adquire mais uma mutação ou mudança epigenética que lhe confere uma vantagem seletiva em relação às células vizinhas, tornando-a mais apta a progredir no ambiente
- A maioria das células cancerosas humanas acumula alterações genéticas em uma taxa anormalmente rápida

