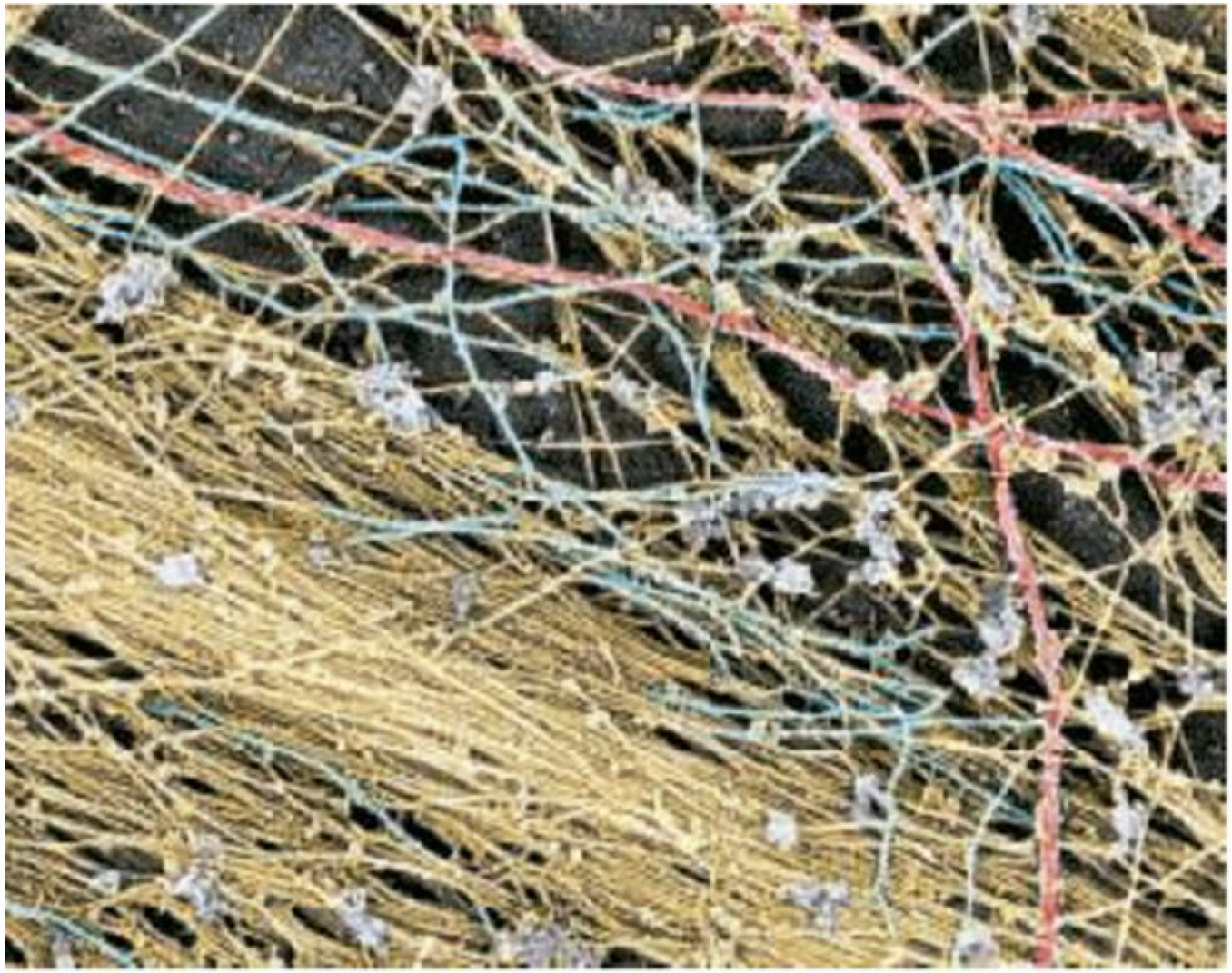
ACH5553 – Genética Geral e Molecular

AULA 7_ CITOESQUELETO

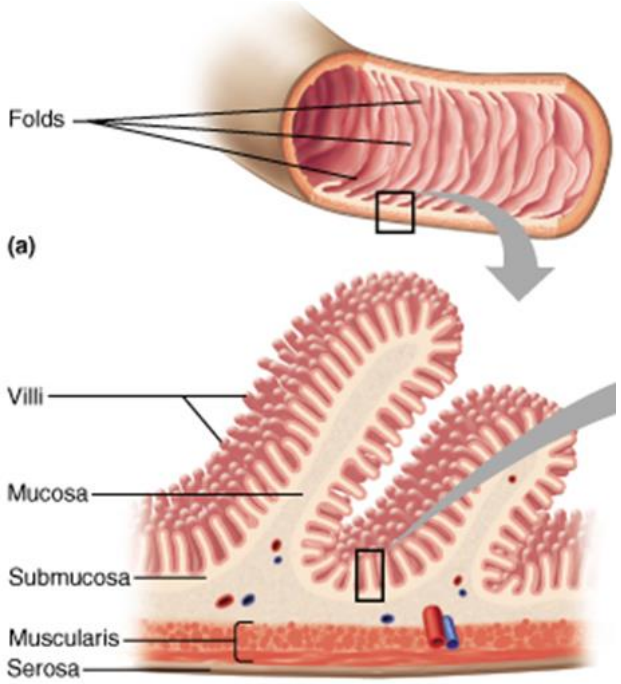
CITOESQUELETO

- Rede de filamentos espalhados por todo citosol;

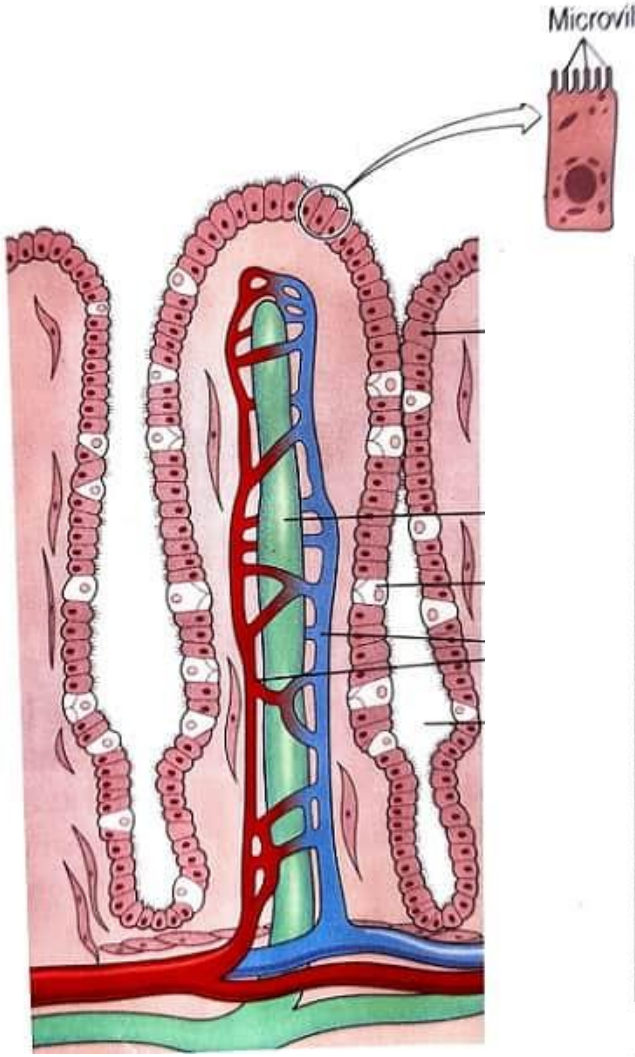
- Esqueleto: estrutura rígida que proporciona forma e sustentação da célula;

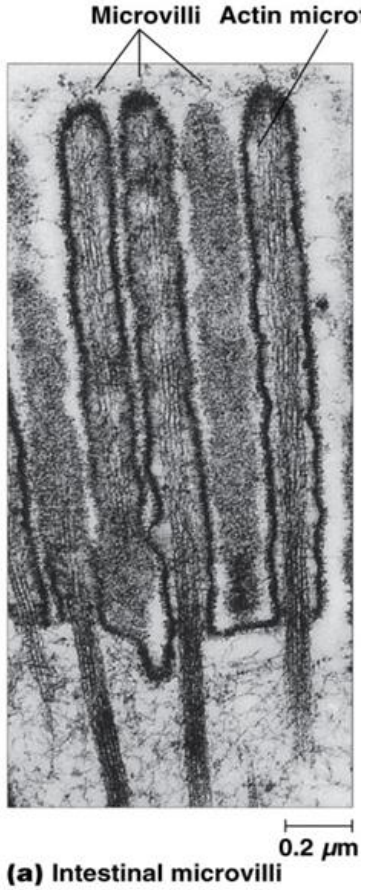


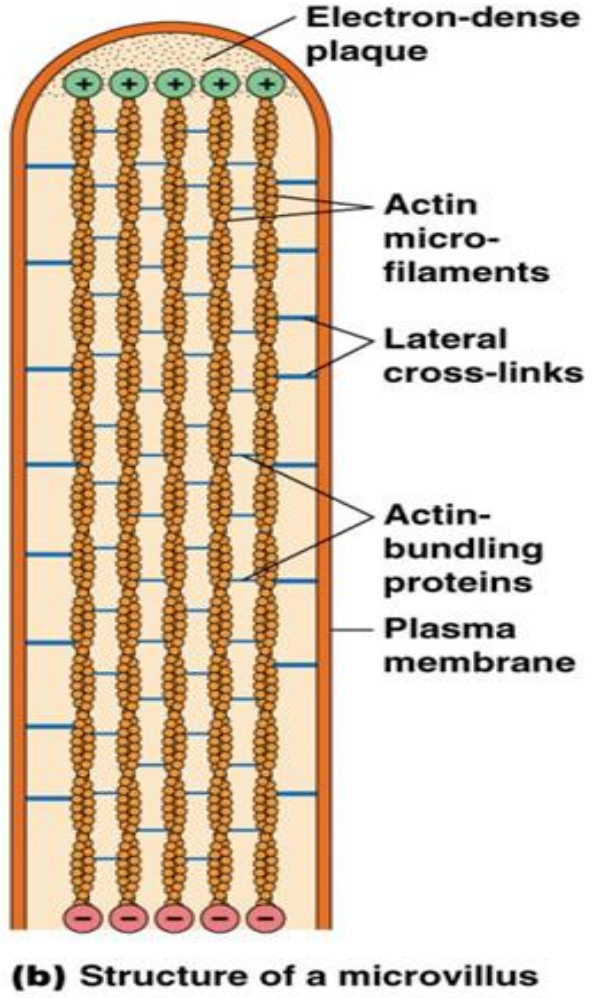
CITOESQUELETO



Microfilamento de actina sustentando microvilosidades

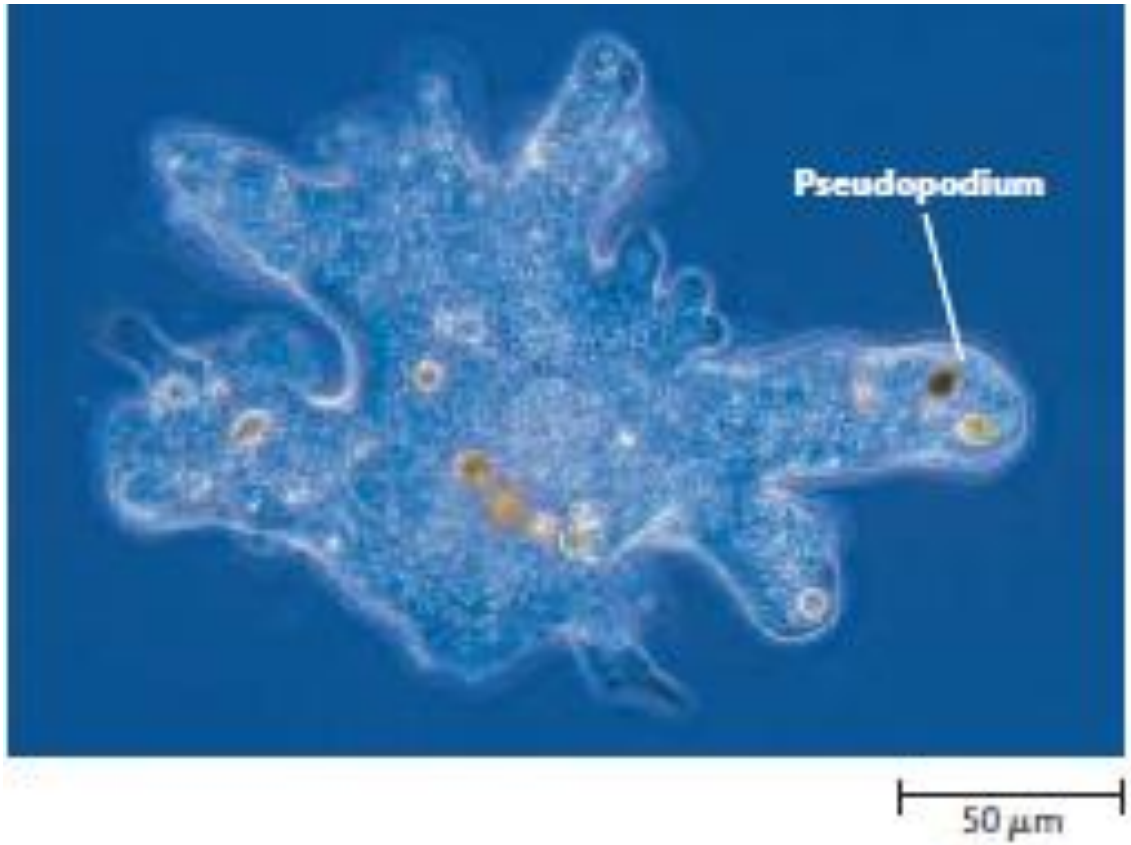


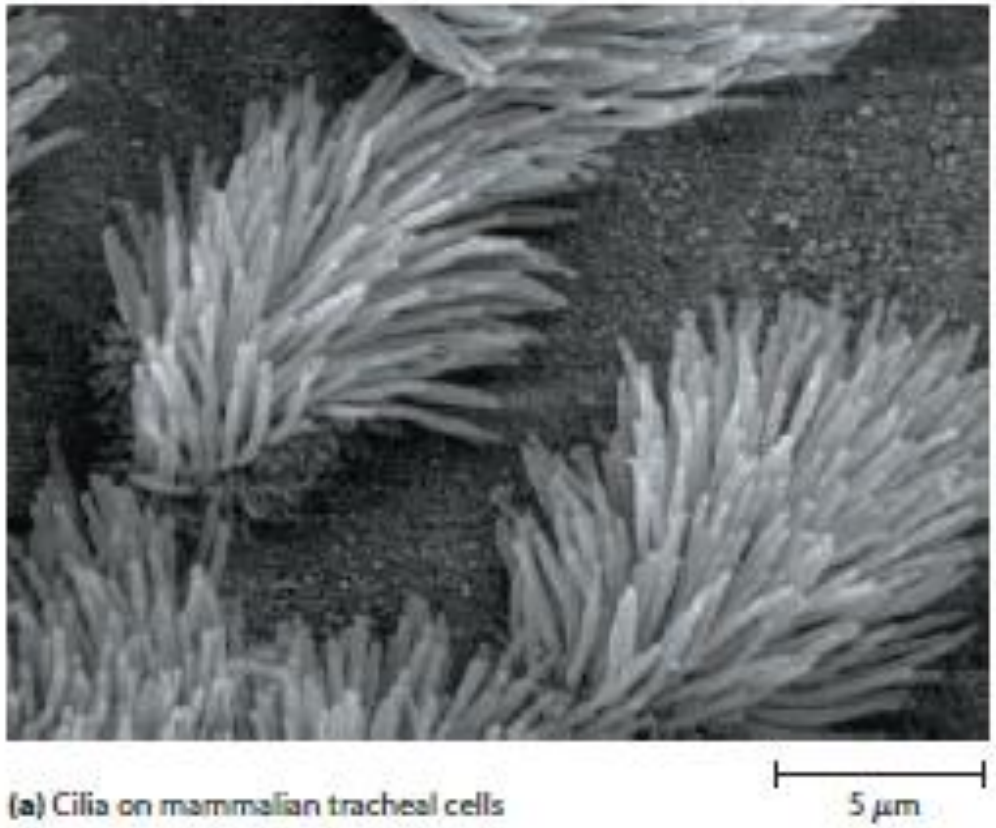




CITOESQUELETO

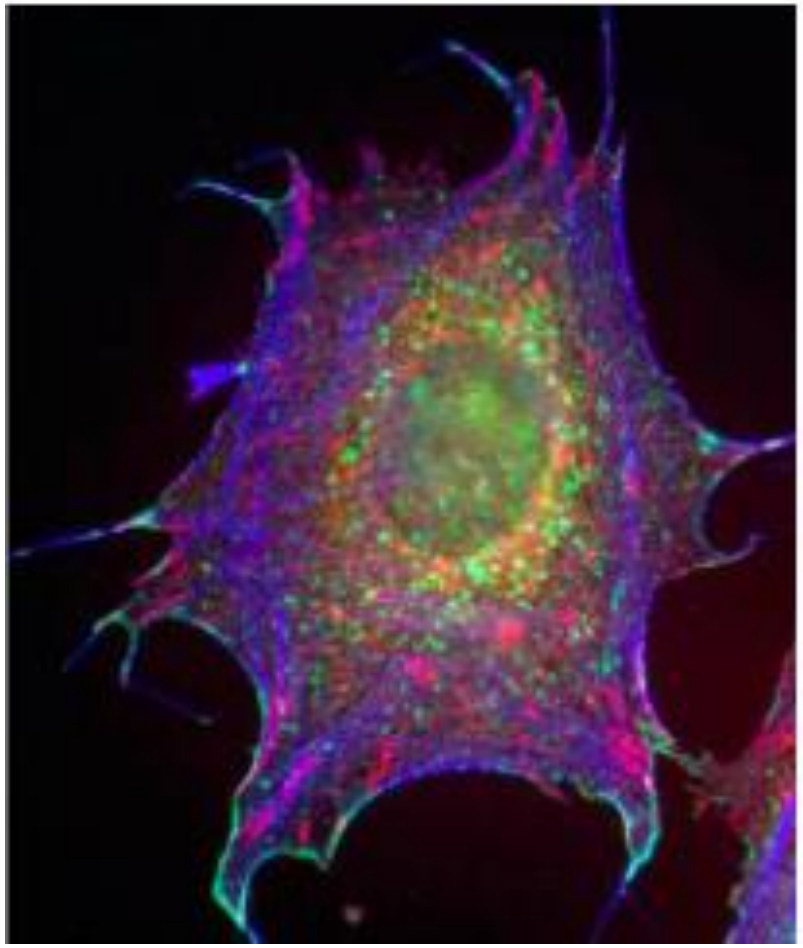
- Por outro lado, tb uma estrutura dinâmica que possibilita alteração da forma;
- Locomoção celular;
- Movimentação celular;

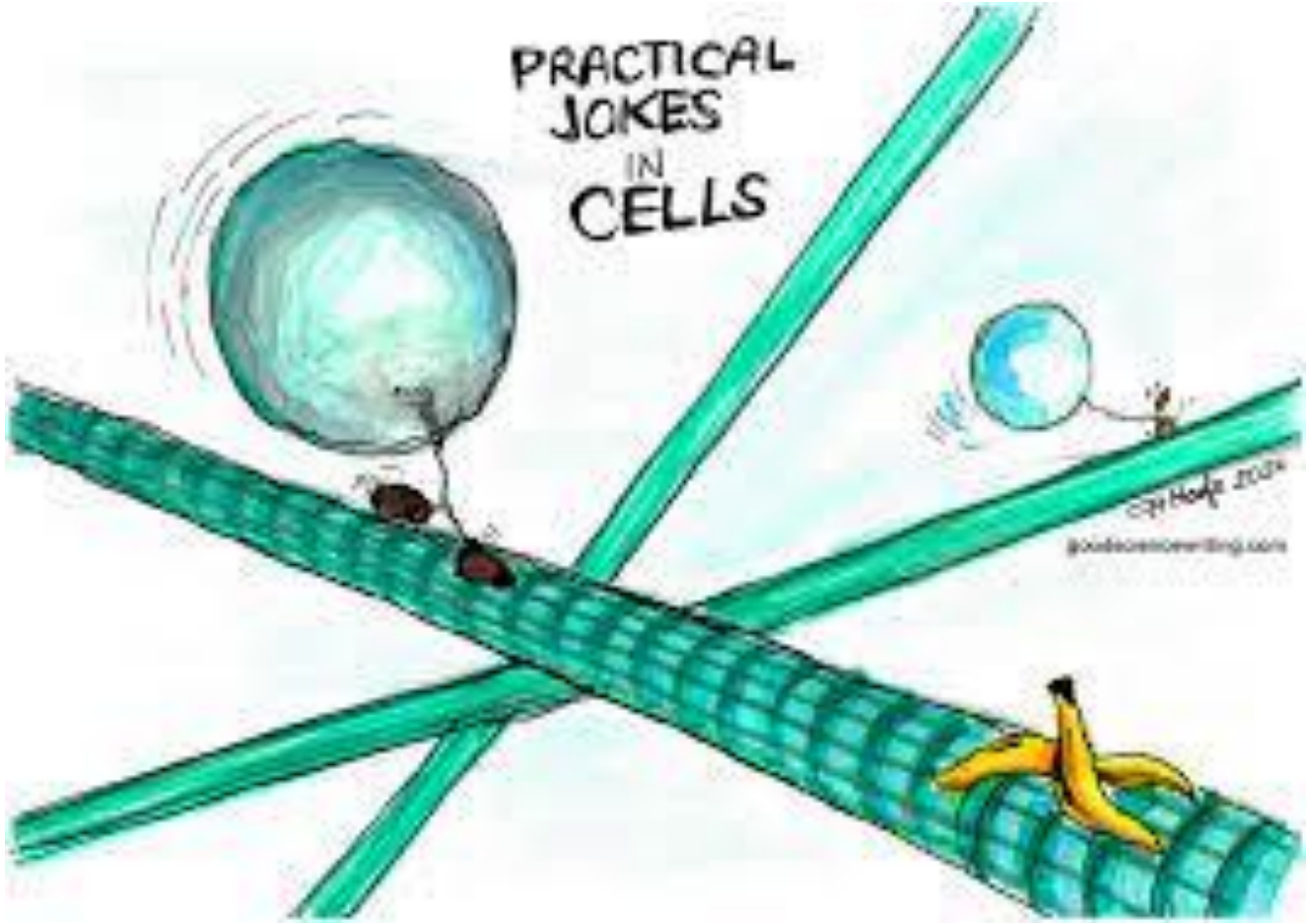




CITOESQUELETO

- Organização dinâmica interna;
- E transporte intracelular.

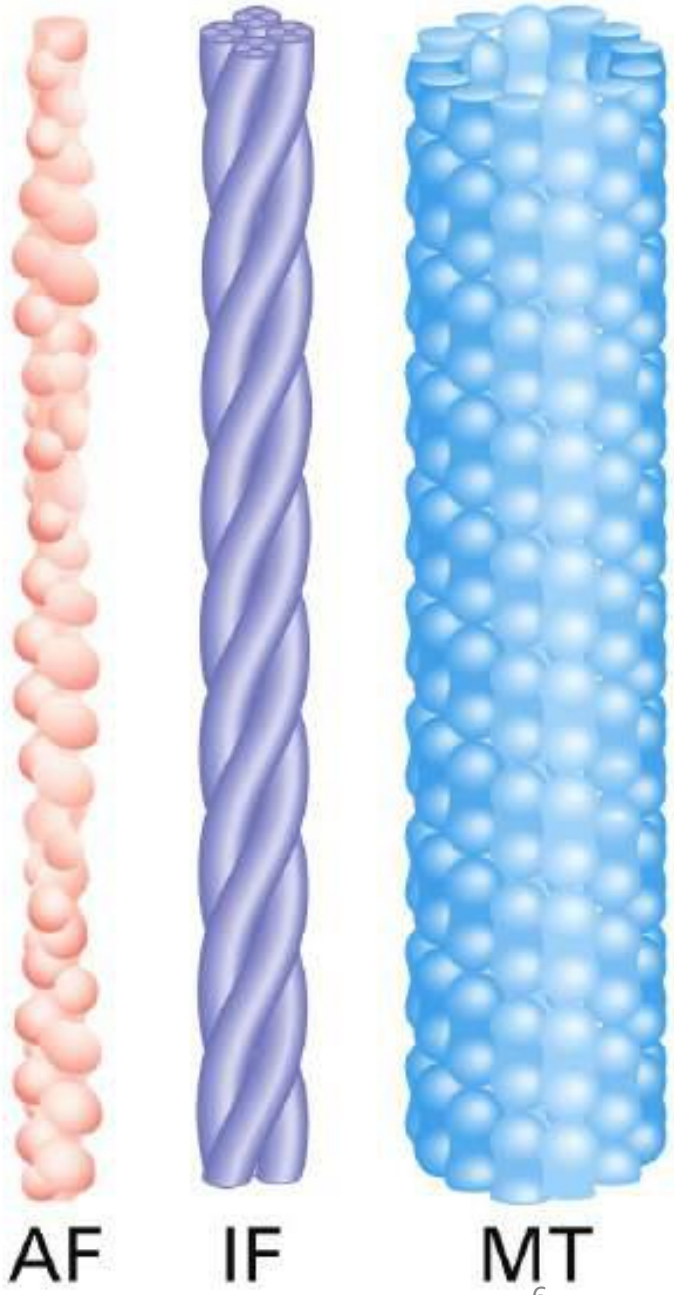




CITOESQUELETO

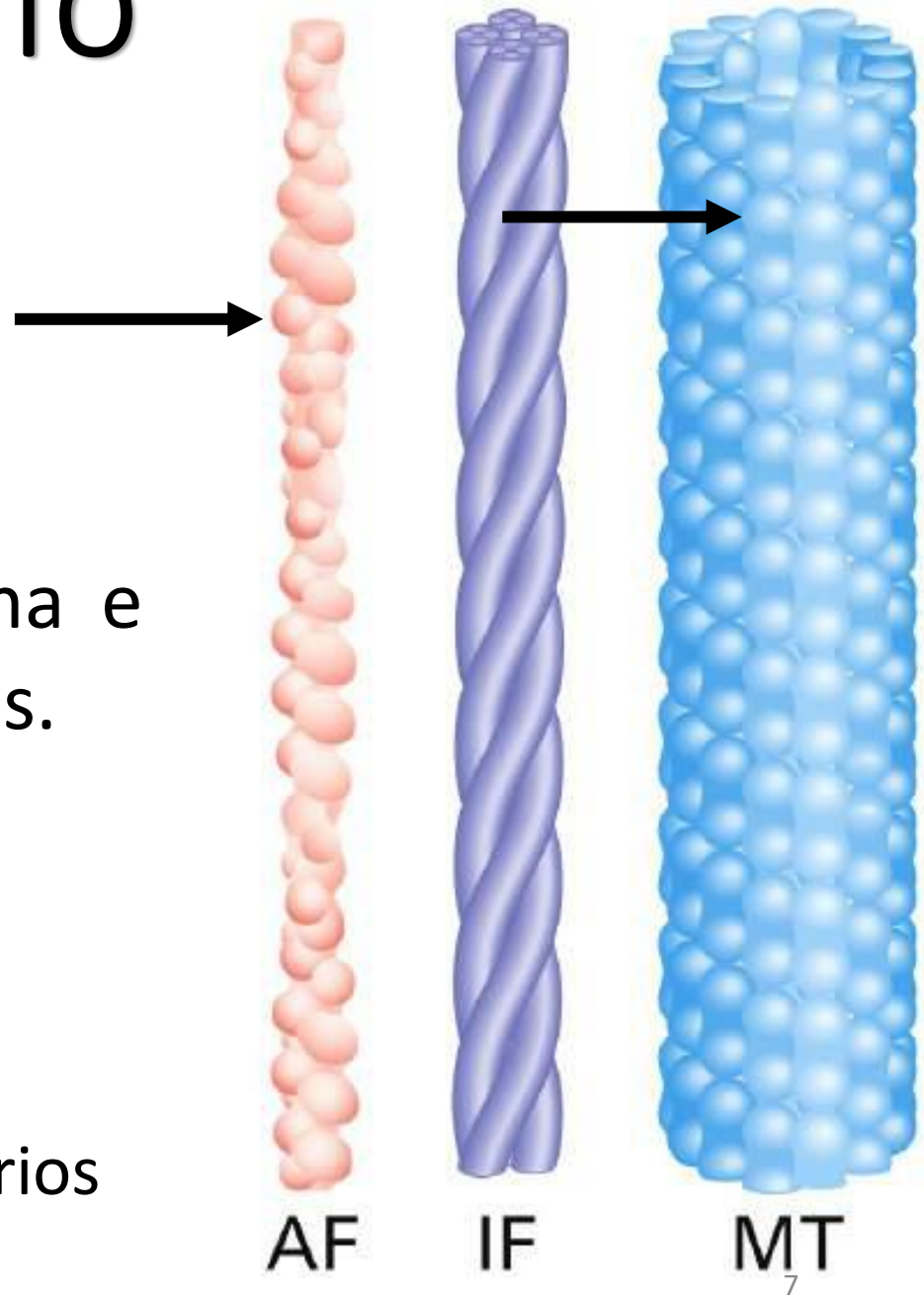
- Filamentos (fibras) do citoesqueleto são cadeias de proteínas formadas por subunidades que definem três classes de filamentos:

FA: Filamentos de Actina (Microfilamentos)
FI: Filamentos Intermediários
MT: Microtúbulos



CITOESQUELETO

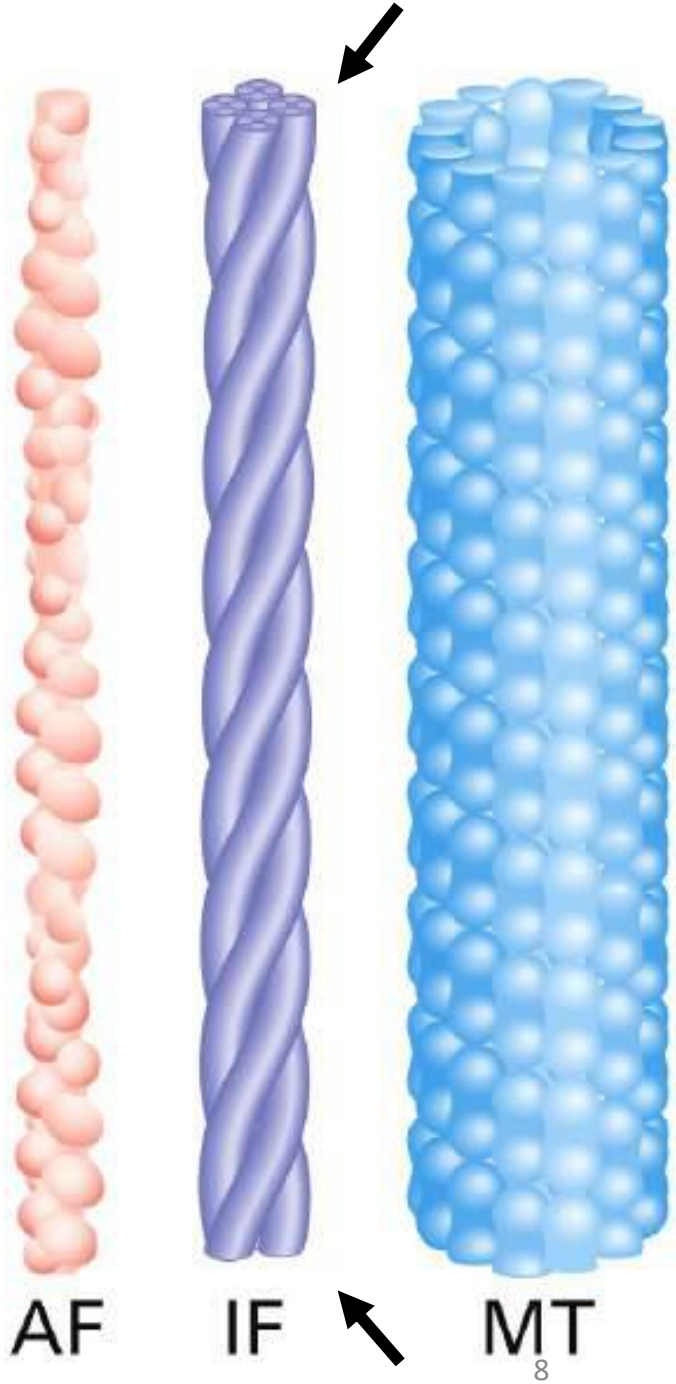
- As subunidades dos filamentos do actina e dos microtúbulos são proteínas globulares.



FA: Filamentos de Actina
FI: Filamentos Intermediários
MT: Microtúbulos

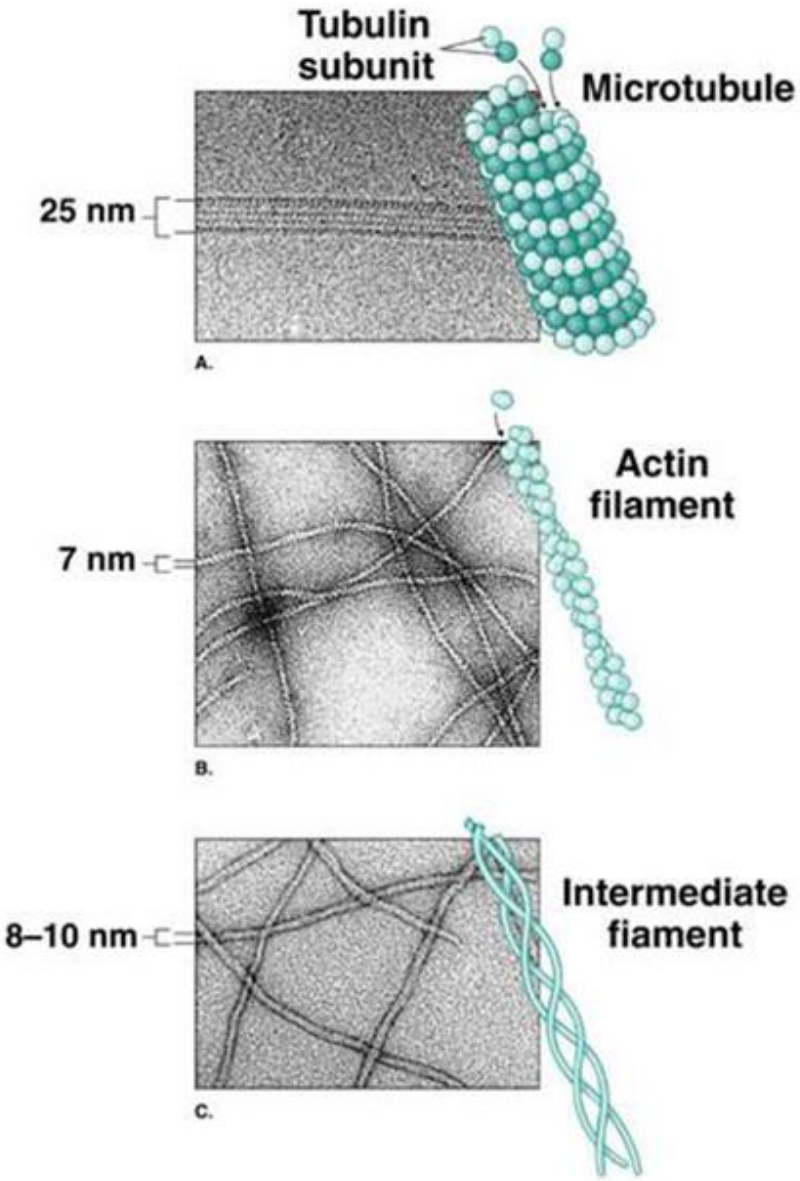
CITOESQUELETO

- As subunidades dos filamentos intermediários são proteínas fibrosas



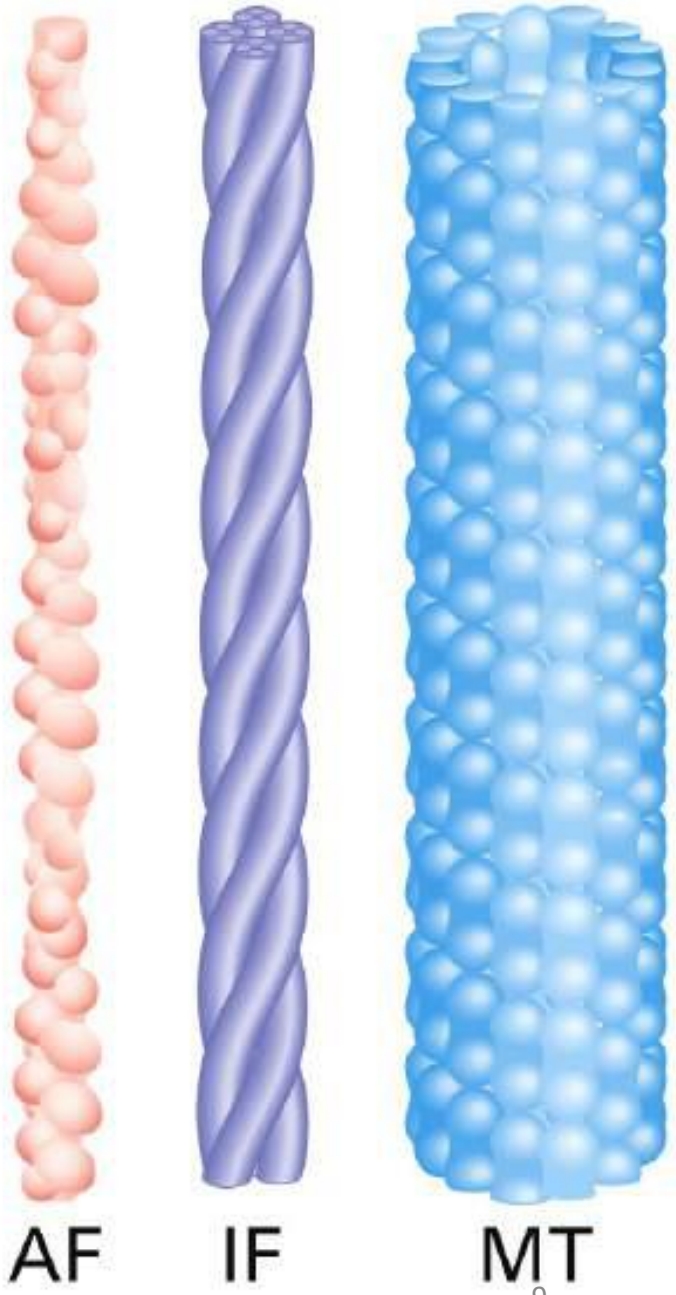
FA: Filamentos de Actina
FI: Filamentos Intermediários
MT: Microtúbulos

CITOESQUELETO

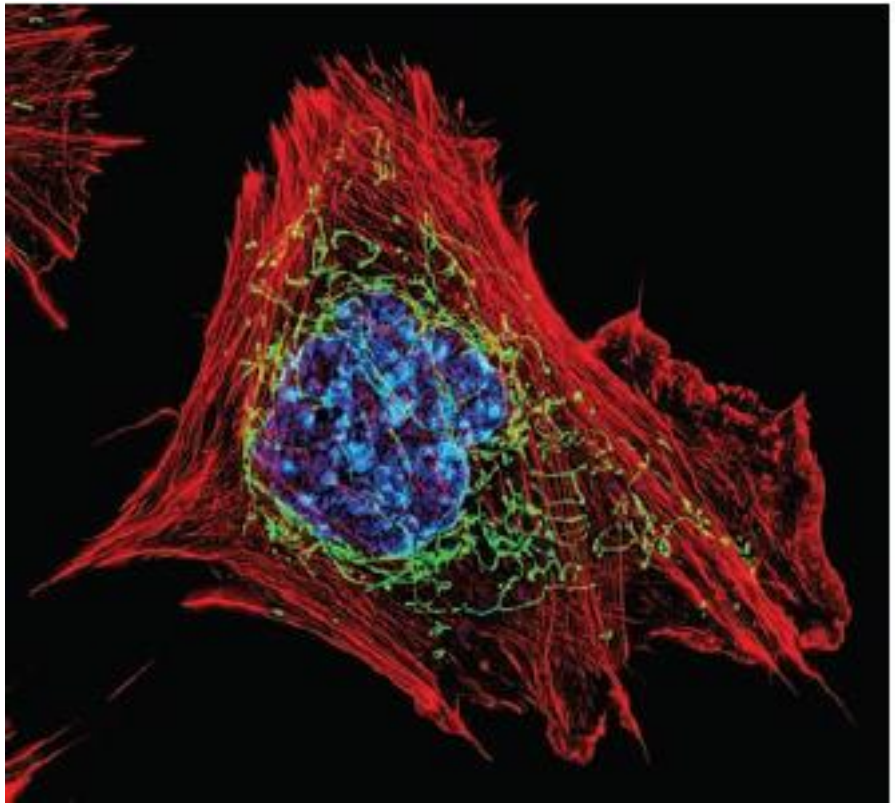


- Os filamentos do citoesqueleto podem ser diferenciados pela sua espessura;

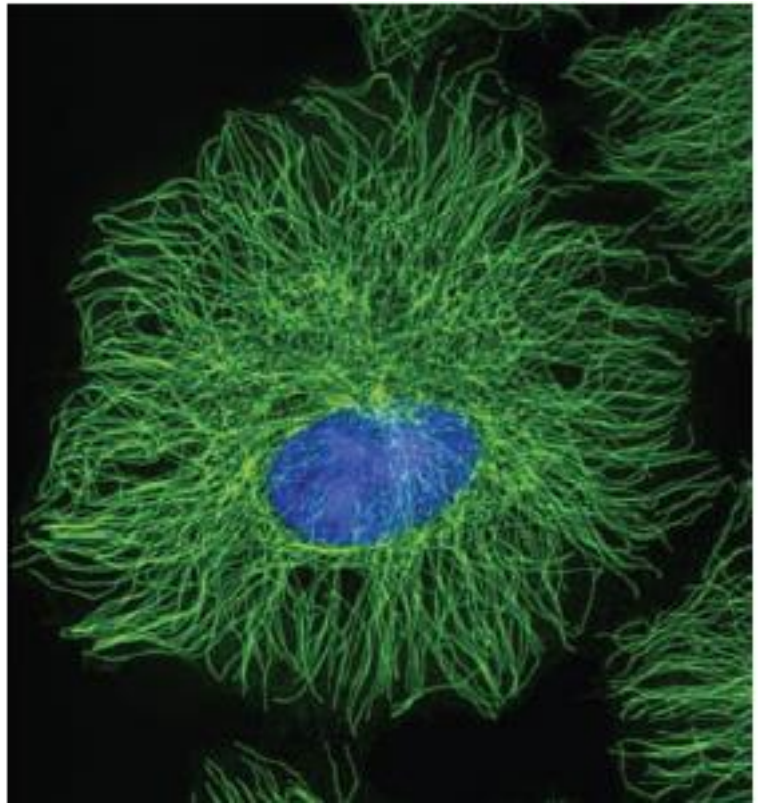
FA: Filamentos de Actina
FI: Filamentos Intermediários
MT: Microtúbulos



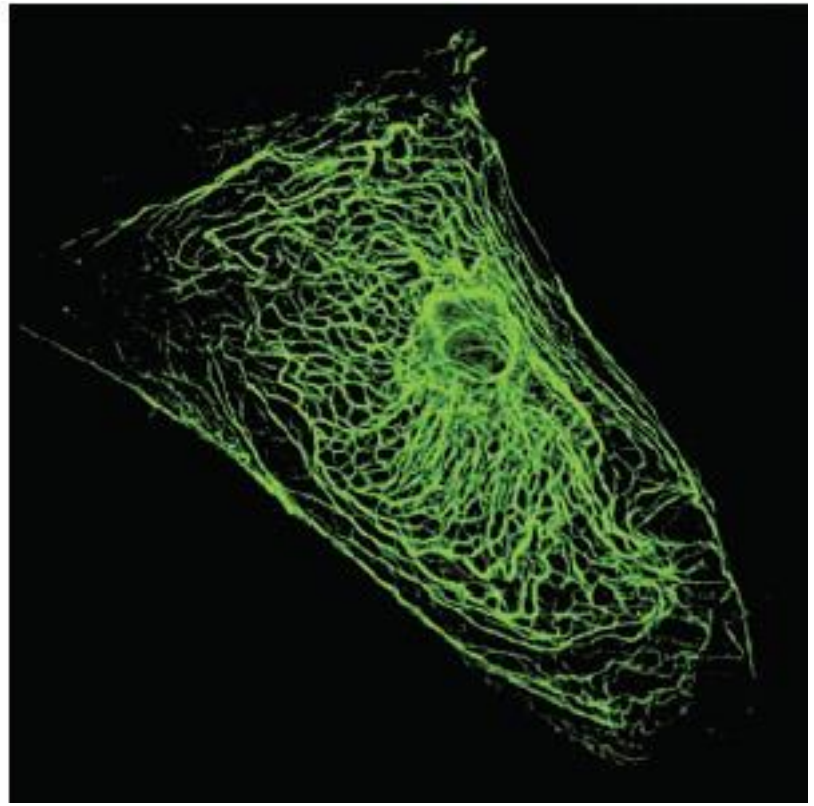
CITOESQUELETO



Filamentos de actina



Microtúbulos

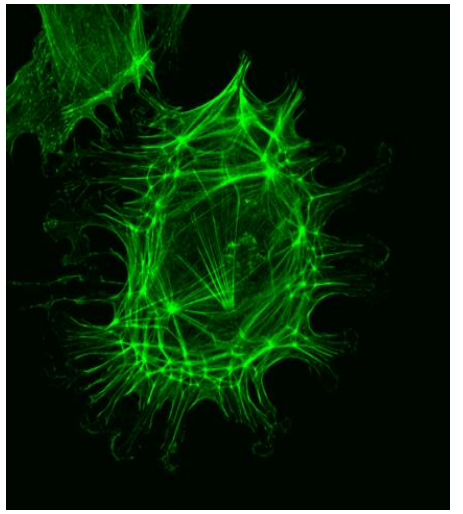


Filamentos intermediários

CITOESQUELETO

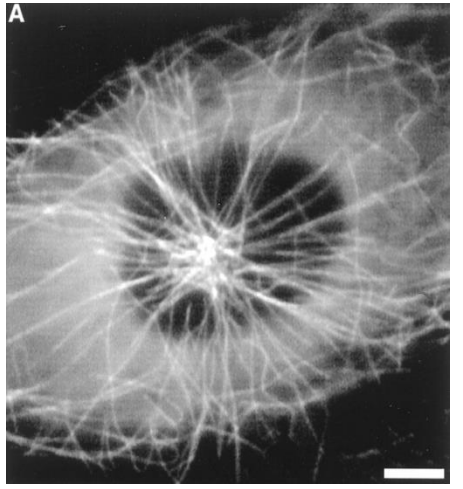
1. MICROFILAMENTOS

- Filamentos mais finos constituídos por actina. Geralmente presentes formando feixes interligados ou redes. Funções principais: geração da forma e movimentação da célula.



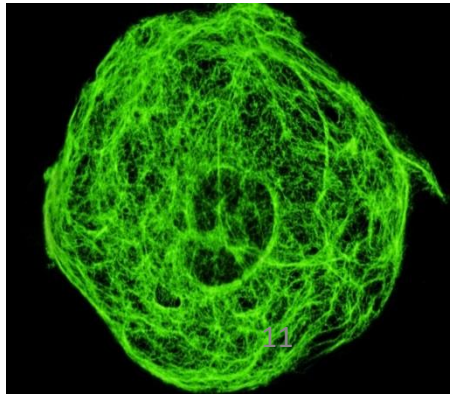
2. MICROTÚBULOS

- Filamentos mais espessos constituídos por tubulina. Formam tubos cilíndricos ocos. Principais funções: Organização e transporte intracelular.



3. FILAMENTOS INTERMEDIÁRIOS

- Filamentos constituídos por diferentes proteínas. Fibras intermediárias organizadas em “tranças”. Funções principais: estabilização da estrutura e formato da celular

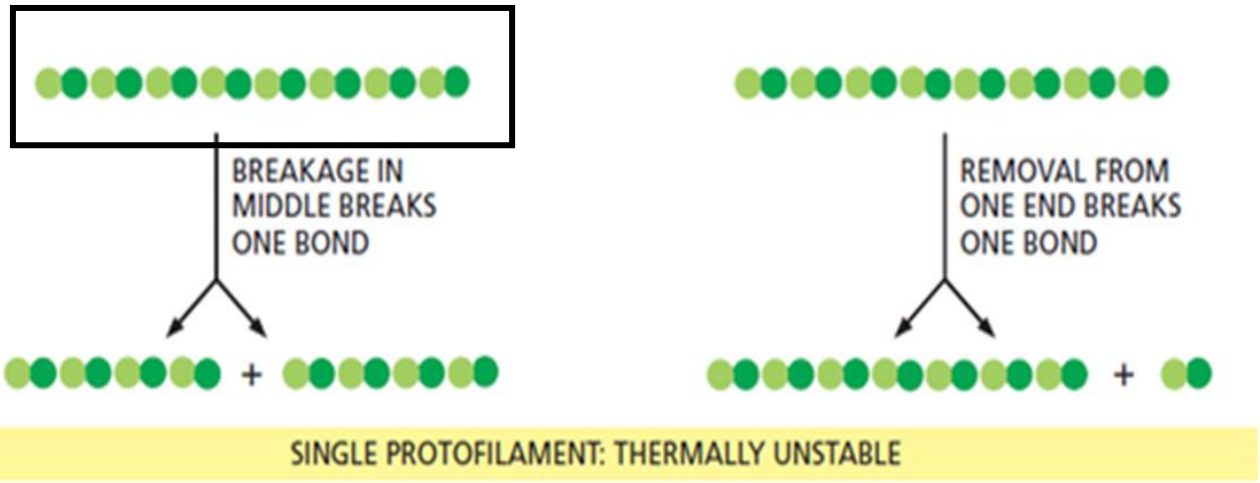


PROPRIEDADES dos FILAMENTOS

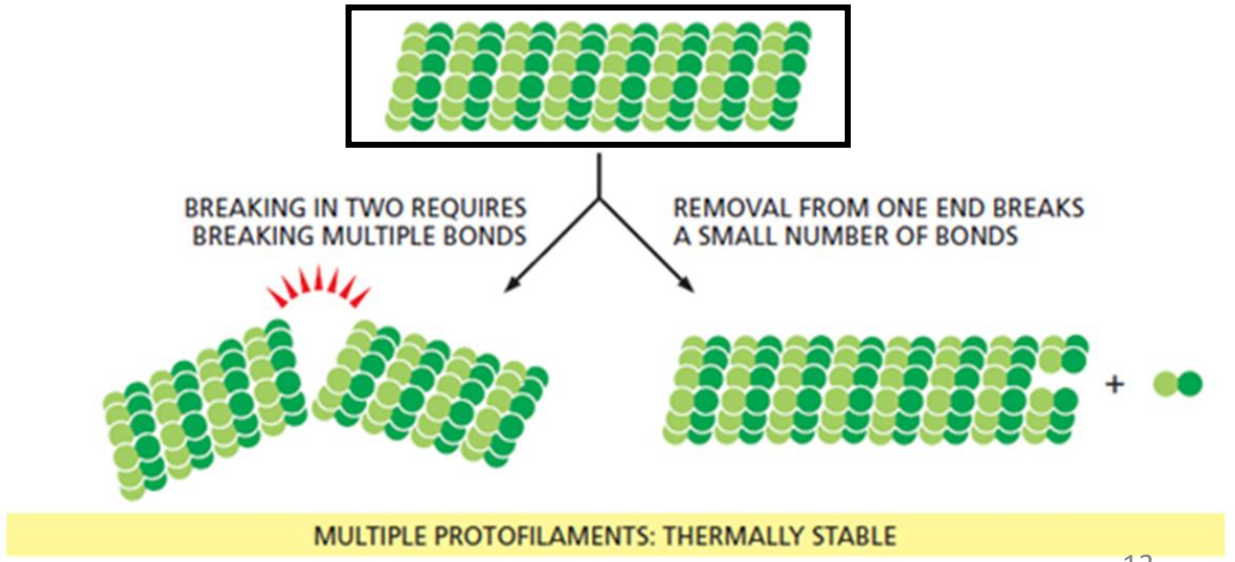
- São formados por subunidades que “polimerizam” (associação não covalente);
- Que permitem rápidas associações e dissociações (montagens e desmontagens dos filamentos);
- São estruturas dinâmicas, maleáveis, adaptáveis;
- Mas tb podem gerar estruturas rígidas e estáveis.

PROPRIEDADES dos FILAMENTOS

- Uma cadeia (formada por subunidades que se repetem), também é chamada por protofilamento;
- O protofilamento é muito instável;

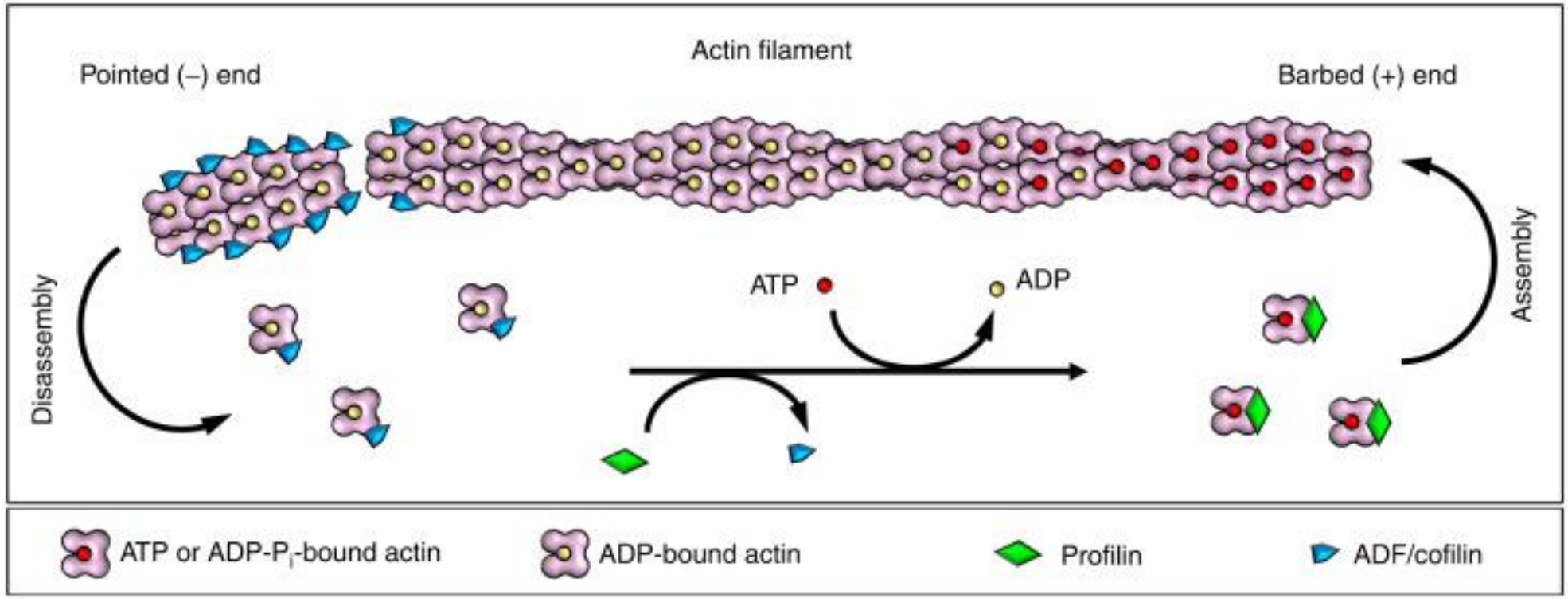


- O filamento funcional é a reunião de protofilamentos, que geram estruturas mais estáveis;
- No meio da estrutura, mas não nas extremidades;



PROPRIEDADES dos FILAMENTOS

- Nas extremidades dos protofilamentos podem ser acrescidas ou removidas subunidades;
- Existe uma extremidade onde os filamentos preferencialmente aumentam de tamanho e na outra diminuem de tamanho;
- Processo controlado pela hidrólise de ATP ou GTP.

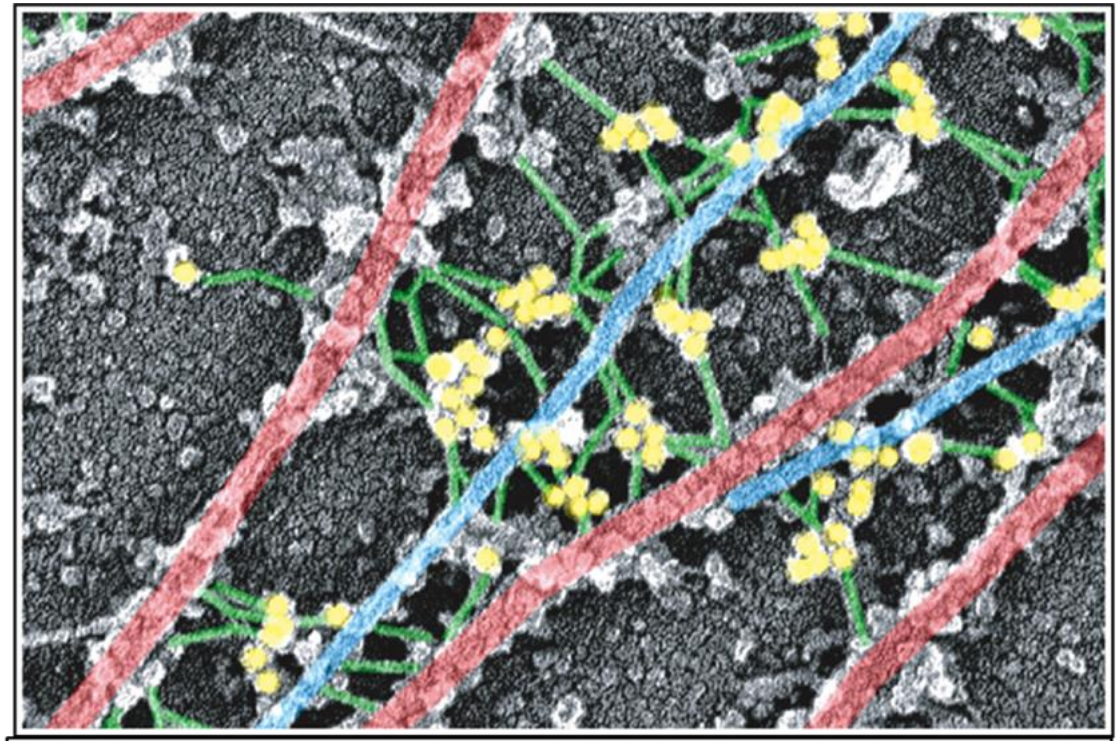


PROPRIEDADES dos FILAMENTOS

- Uma característica dos filamentos do citoesqueleto é a capacidade de interagir com vários tipos de proteínas acessórias;

- Essas proteínas alteram propriedades das subunidades ou dos filamentos;

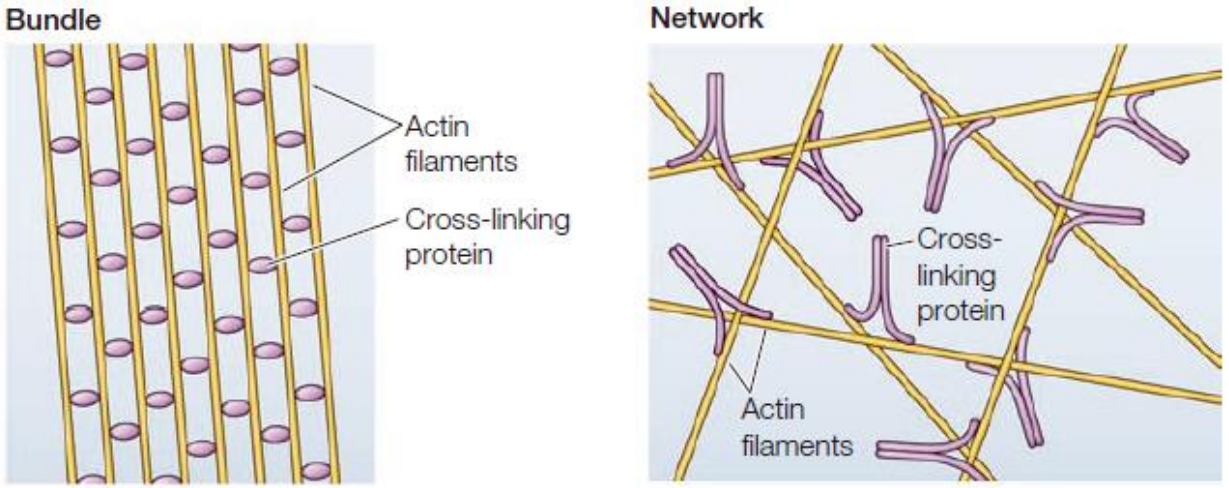
- São mediadoras das interações entre os filamentos, e dos filamentos com outras estruturas celulares.



Em vermelho, os **microtúbulos**;em azul, os **filamentos intermediários**; e em verde, **fibras de conexão de plectina** e, em amarelo partículas de ouro ligadas a anticorpos que reconhecem a plectina

FILAMENTOS de ACTINA / MICROFILAMENTOS

- Componentes ubíquos nas células, realizando funções celulares gerais ou particulares;
- Funções realizadas pela associação de microfilamentos em feixes ou redes;

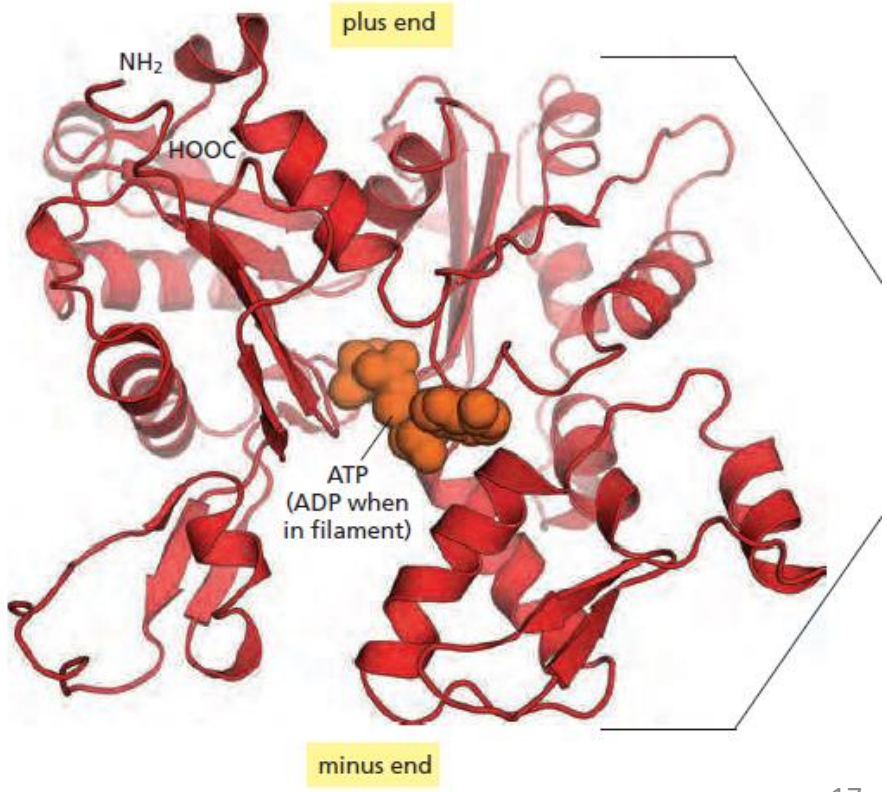


- Geram estruturas maleáveis ou estáveis, dependendo da dinâmica de associação e dissociação das subunidades;
- Controlada por proteínas acessórias.

FILAMENTOS de ACTINA / MICROFILAMENTOS

- A subunidade do filamento é uma proteína **actina**;
- Proteína pequena de 375 aa (43 kDa);
- Também chamada de G-actina, por ser uma proteína globular;
- Interage com ATP ou ADP na sua porção central.

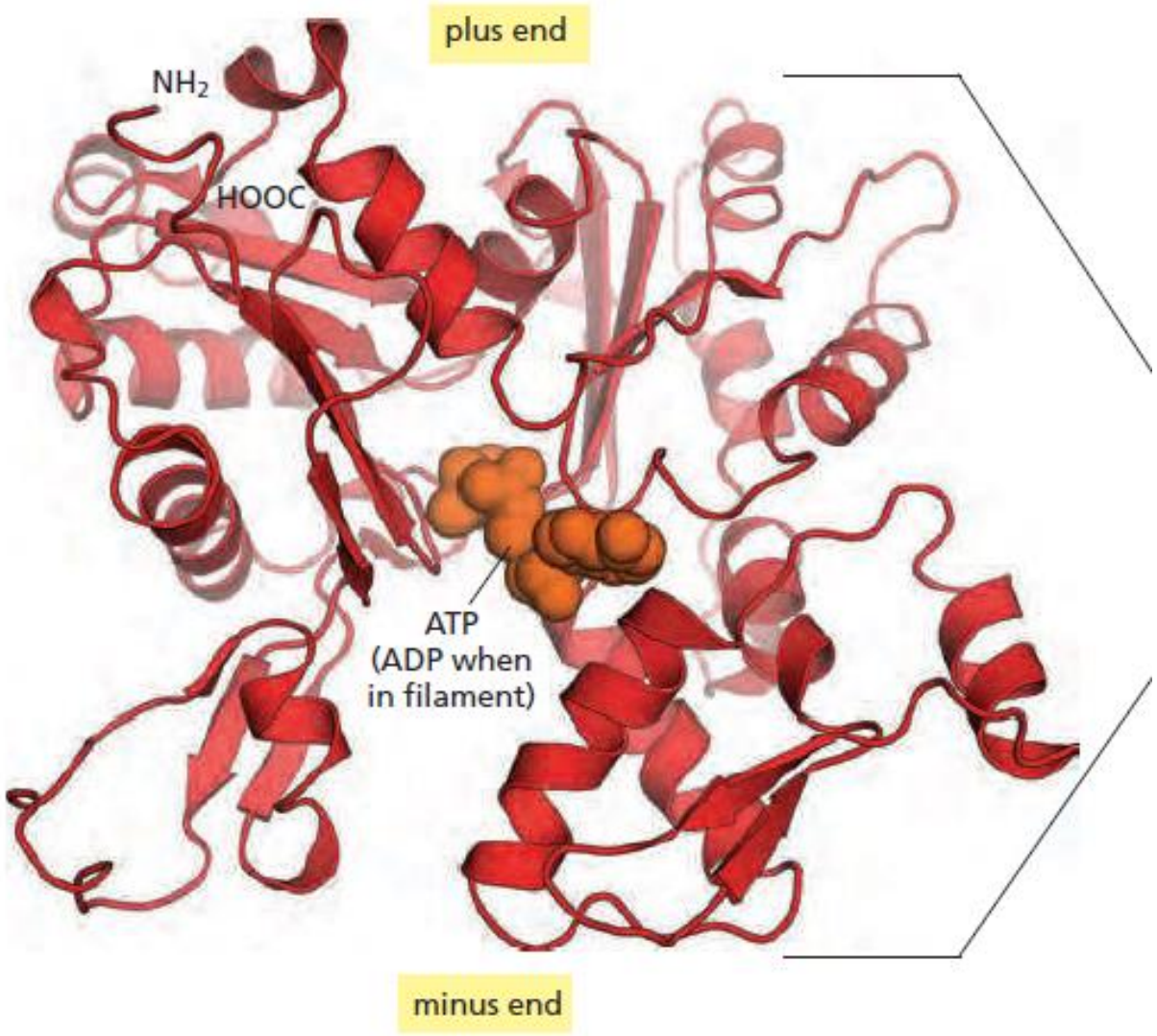
- Um gene em levedura mas vários genes em mamíferos;
- Conservação alta, ≈ 90% entre a de levedura e as de mamíferos.
- Uma proteína muito abundante (tipicamente entre 5 a 10% do total de proteínas de células eucariotas).



(A)

FILAMENTOS de ACTINA / MICROFILAMENTOS

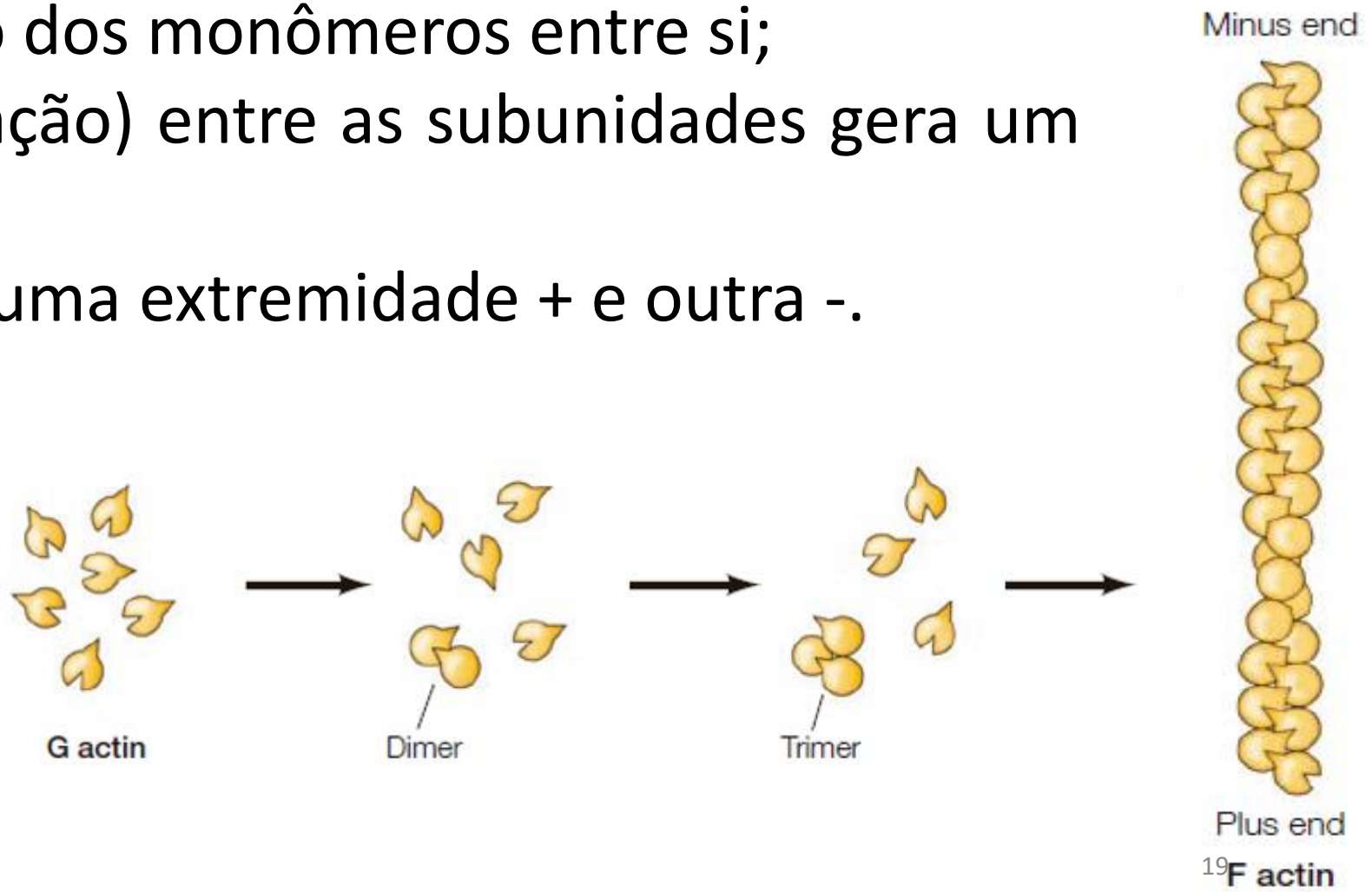
- As extremidades da actina são diferentes entre si;
- Criando uma assimetria/ polaridade na molécula



(A)

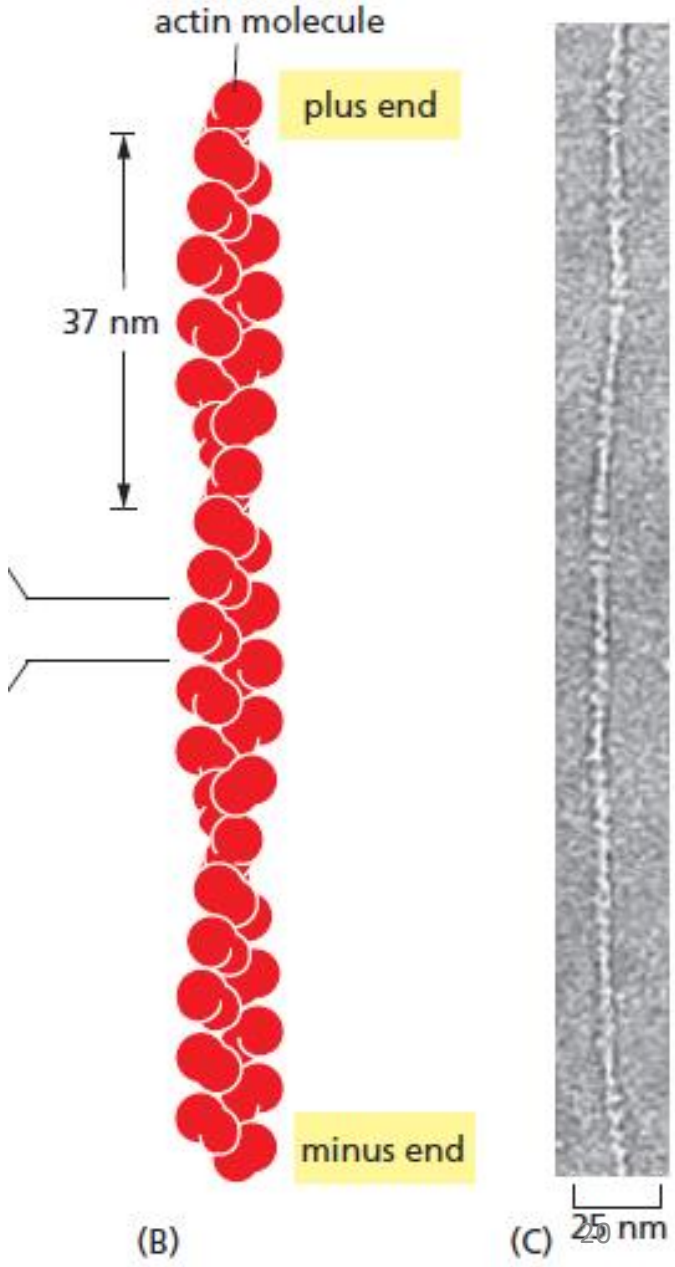
FILAMENTOS de ACTINA / MICROFILAMENTOS

- As extremidades de uma molécula apresentam alta afinidade com extremidades opostas de outra molécula;
- Promovendo a interação dos monômeros entre si;
- E associação (polimerização) entre as subunidades gera um protofilamento.
- Que é assimétrico, com uma extremidade + e outra -.



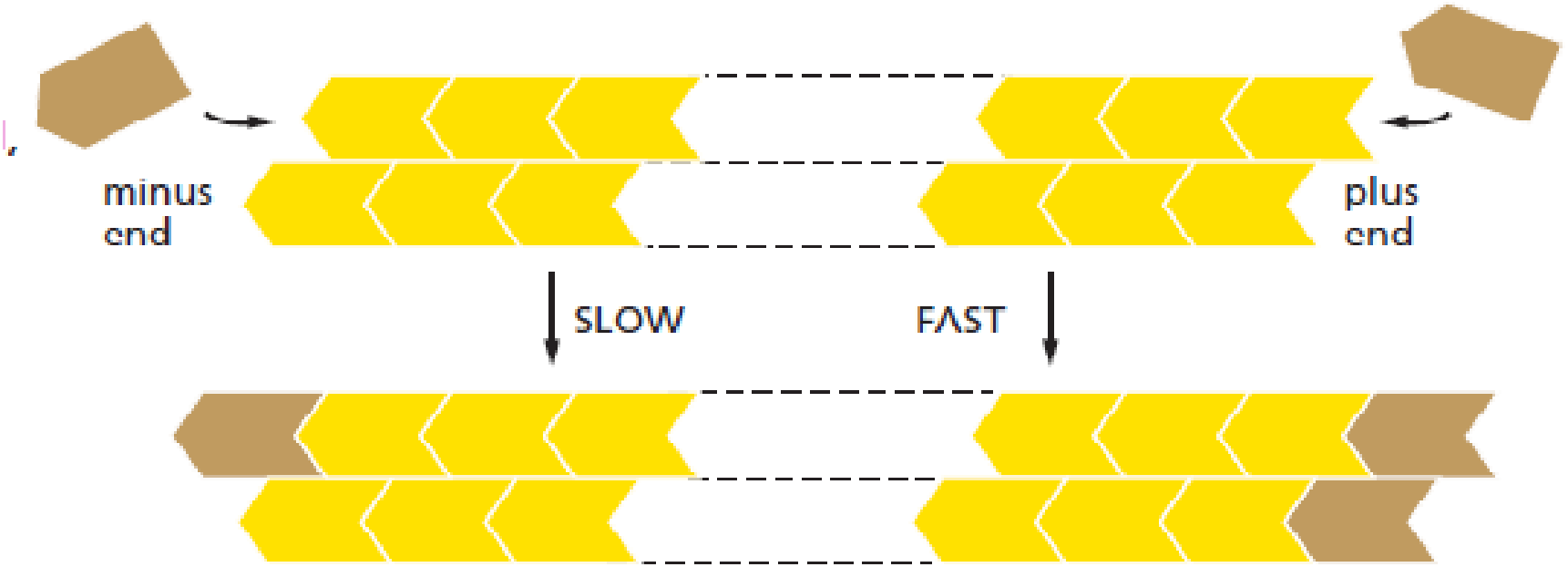
FILAMENTOS de ACTINA / MICROFILAMENTOS

- O protofilamento é uma estrutura fina e flexível, a F-actina;
- Que devido ao ângulo de associação entre os monômeros gera uma estrutura helicoidal;
- A assimetria gerada no polímero reflete o funcionamento diferente do protofilamento em cada extremidade.



FILAMENTOS de ACTINA / MICROFILAMENTOS

- Existe uma dinâmica de polimerização nos protofilamentos:
- A polimerização é maior na extremidade (+) onde a tendência é a adição de subunidades e aumento do filamento;
- A despolimerização é maior na extremidade (-) onde a tendência é a remoção de subunidades e a diminuição do filamento.

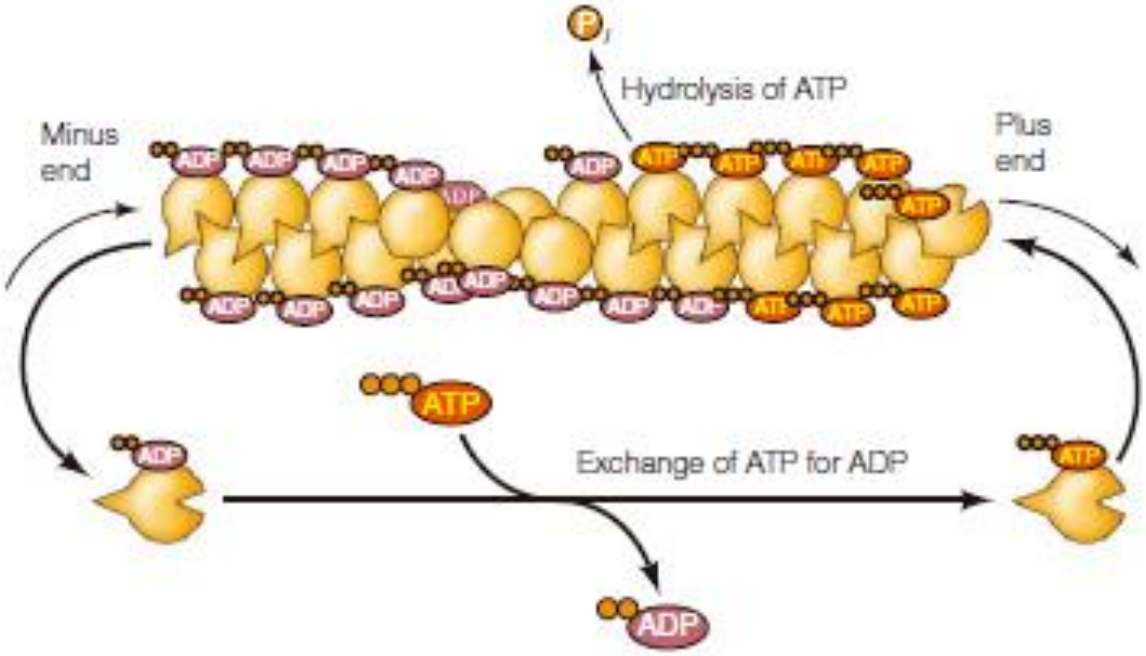


FILAMENTOS de ACTINA / MICROFILAMENTOS

- A G-actina pode estar ligada a ATP ou a ADP;
- Mas no citosol, G-actina tem uma afinidade maior por ATP do que por ADP;
- A forma G-actina-ATP aumenta a afinidade entre as subunidades e a polimerização (incorporação na cadeia);
- No entanto, a incorporação de G-actina-ATP na cadeia acelera a hidrólise de ATP para ADP;
- E actina-ADP, diminui a interação entre os monômeros e favorece a dissociação,

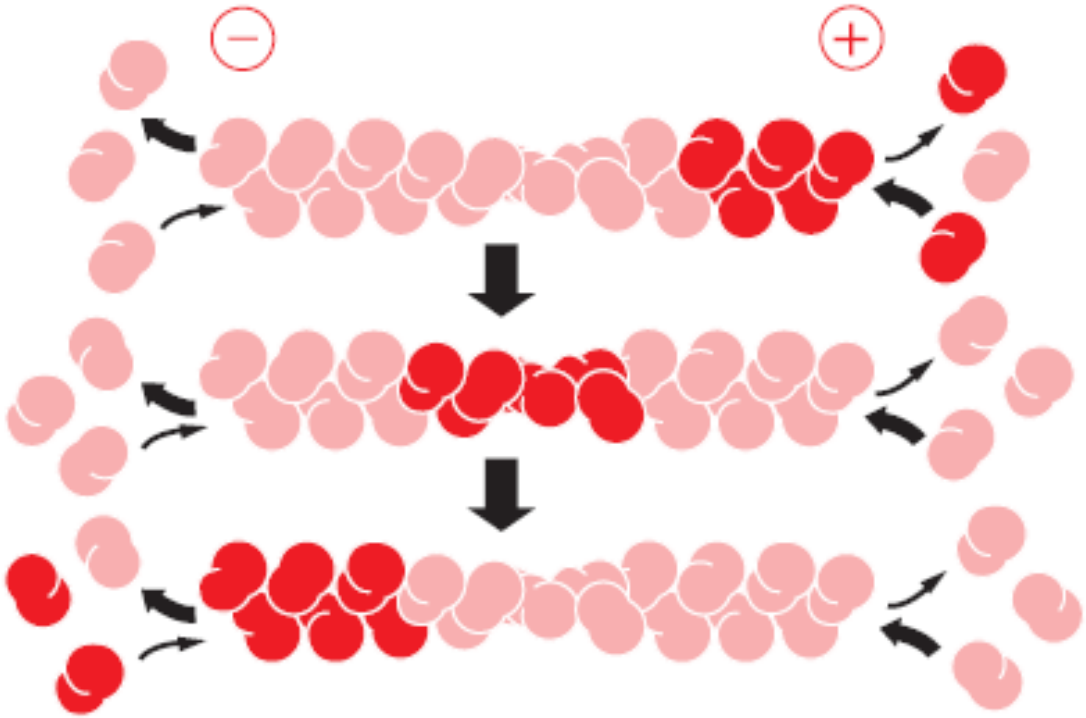
FILAMENTOS de ACTINA / MICROFILAMENTOS

- Então, na extremidade (-) onde a incorporação de subunidades é mais lenta;
- Há mais tempo para a hidrólise de G-actina-ATP para G-actina-ADP;
- E como G-actina-ADP diminui a interação entre os monômeros;
- Favorece a dissociação de unidades da extremidade (-);
- Por outro lado, a extremidade (+) tem afinidade por G-actina-ATP;
- E com a maior velocidade de incorporação favorece a associação e promove a extensão do filamento.



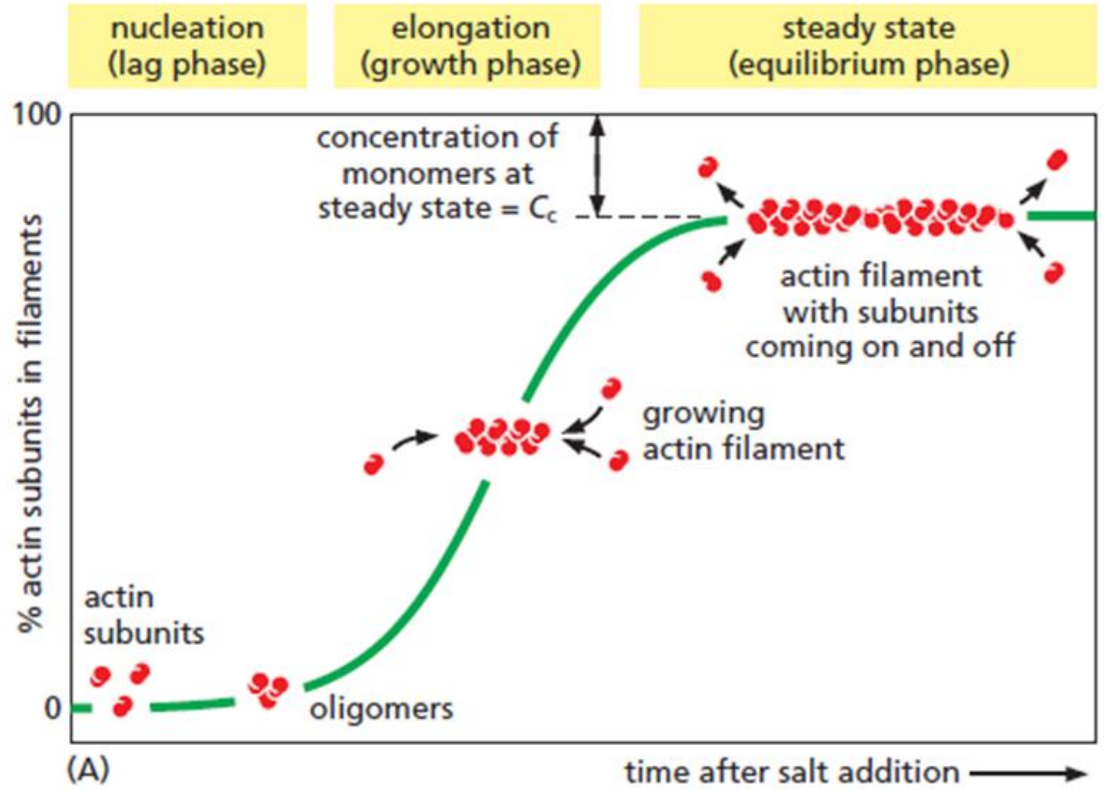
FILAMENTOS de ACTINA / MICROFILAMENTOS

- Por isso, quando ocorre um equilíbrio dado pelas concentrações entre a actina polimerizada (F-actina) e a actina livre (G-actina);
- O resultado da associação e dissociação de subunidades em cada extremidade gera uma constância no tamanho do filamento;
- Essa condição de equilíbrio remete a um mecanismo de escada rolante (*treadmilling*).



FILAMENTOS de ACTINA / MICROFILAMENTOS

- A polimerização é facilitada após a nucleação (junção das primeiras subunidades);
- E uma relação entre G e F-actina pode levar a um estado de equilíbrio;
- Quando a taxa de montagem e desmontagem se equivalem.



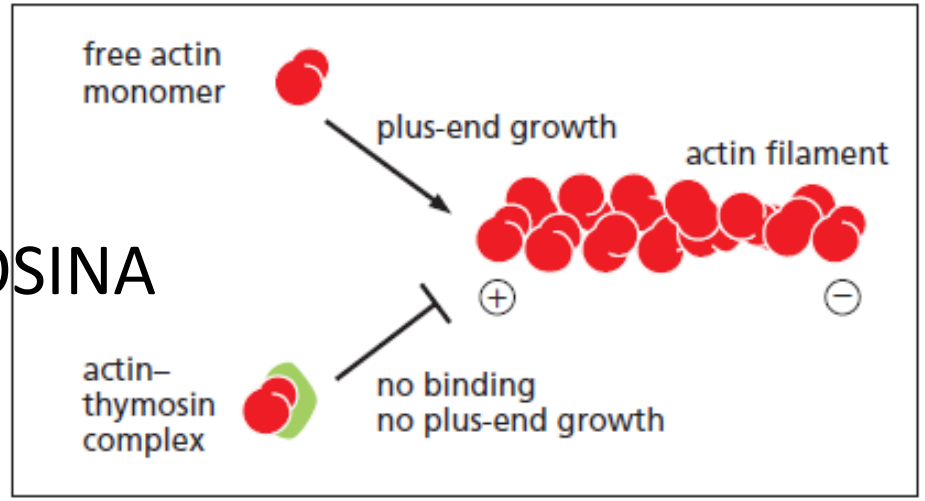
FILAMENTOS de ACTINA / MICROFILAMENTOS

- O controle da montagem e desmontagem da F-actina é fundamental para o que a célula precisa em cada momento;
- Então existe uma dinâmica contínua entre a actina polimerizada (F-actina) e a actina livre (G-actina);
- Dada pela concentração dessas duas moléculas;
- E pela atuação de proteínas acessórias.

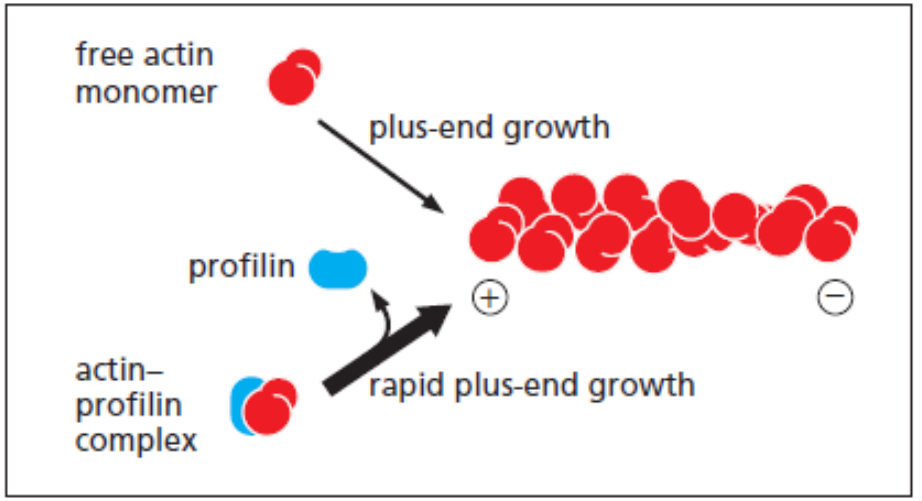
FILAMENTOS de ACTINA / MICROFILAMENTOS

- O equilíbrio entre montagem e desmontagem *in vitro* ocorre na concentração de 0.2 µM da G-actina (actina livre);
- Na célula, para concentração de G-actina 50–200 µM seria de se esperar toda actina incorporada no filamento;
- O que acontece é um sequestro impedindo a formação da fibra;
- Por um mecanismo de competição entre proteínas acessórias que interferem na associação ou não com G-actina.

THYMOSINA

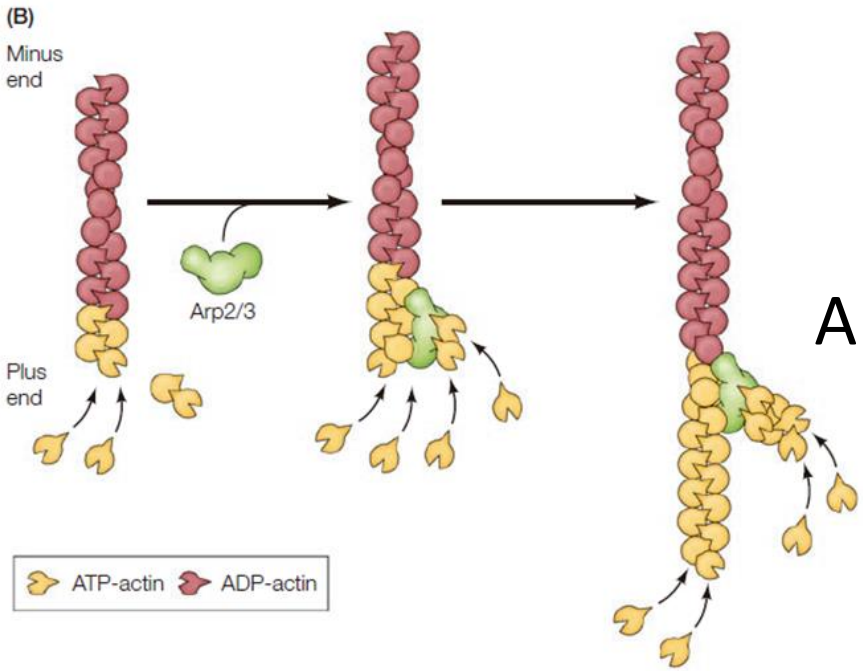


PROFILINA



FILAMENTOS de ACTINA / MICROFILAMENTOS

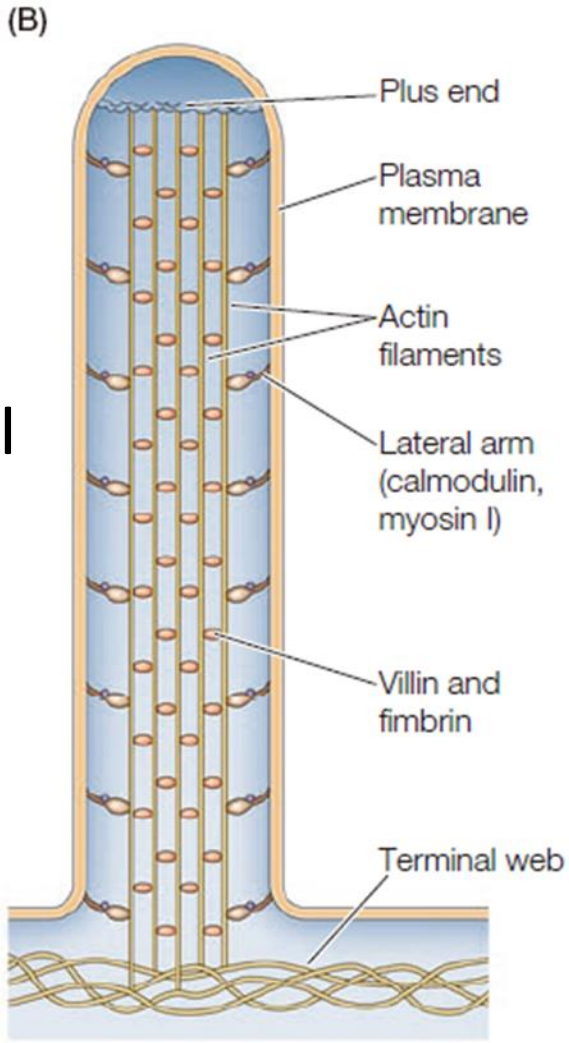
- Alguns exemplos de proteína acessórias



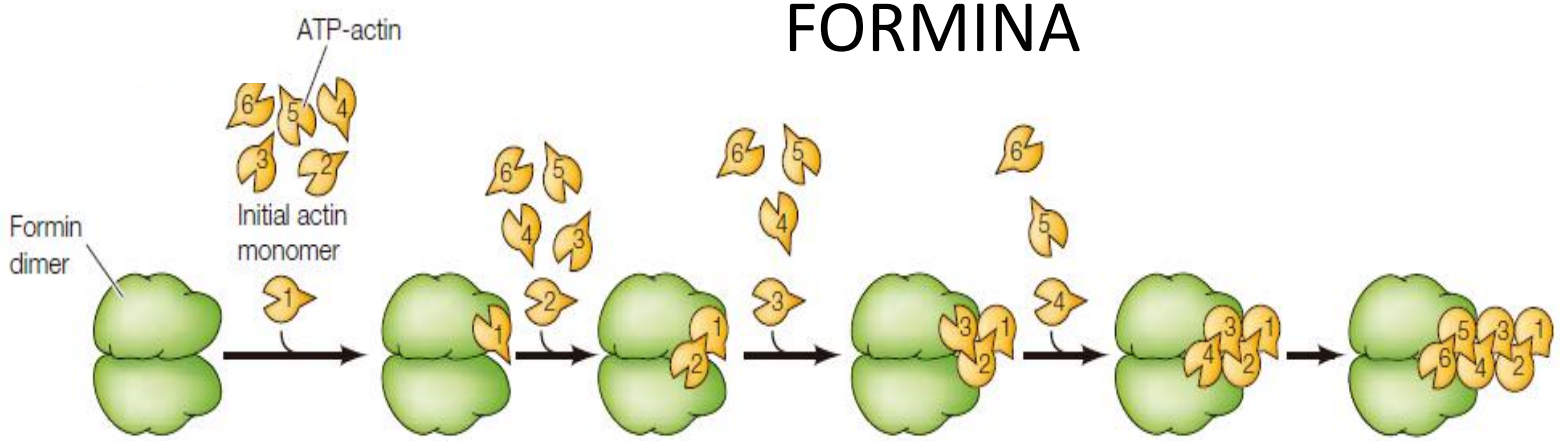
ARP2/3

MIOSINA I

VILINA

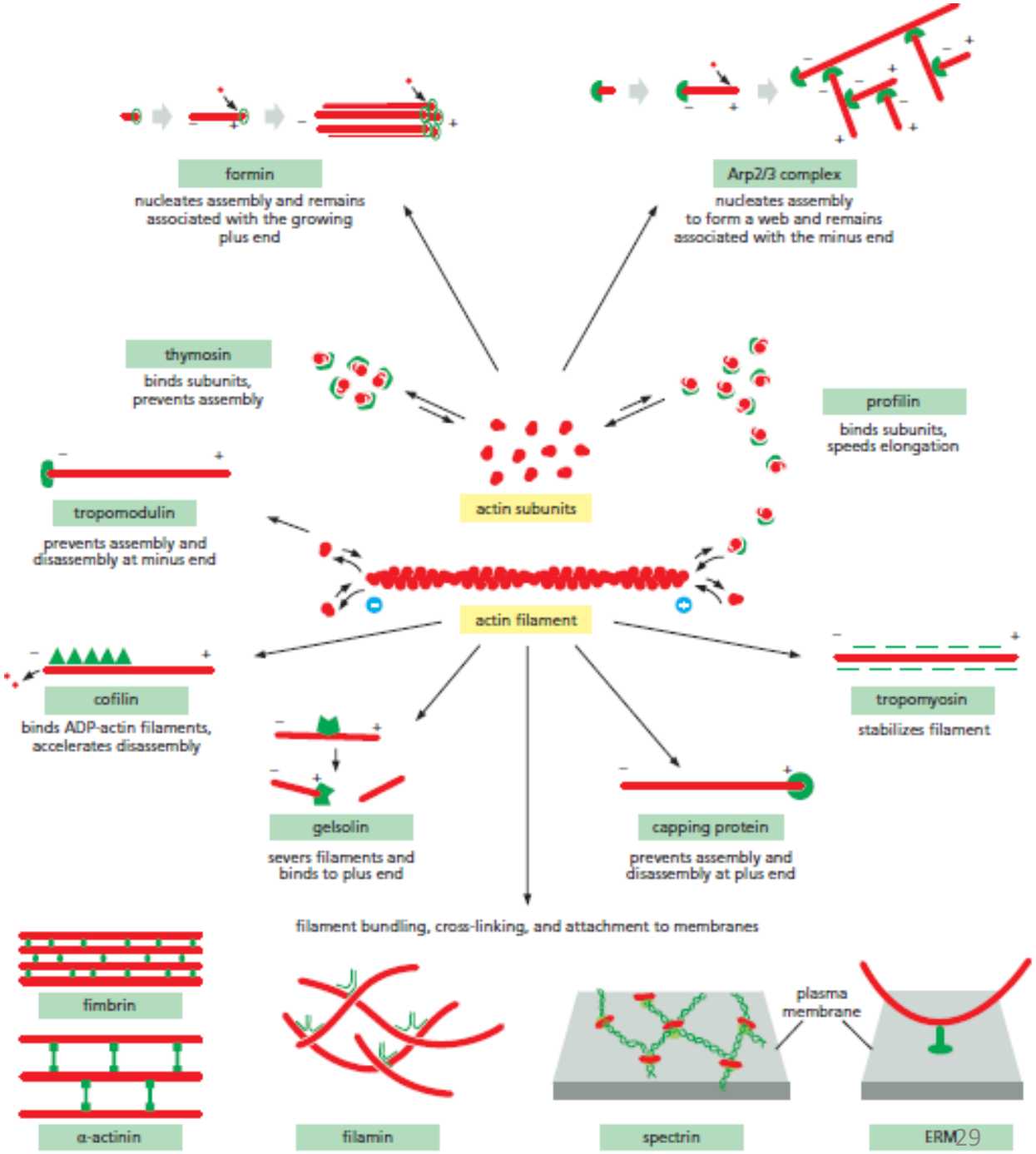


FORMINA



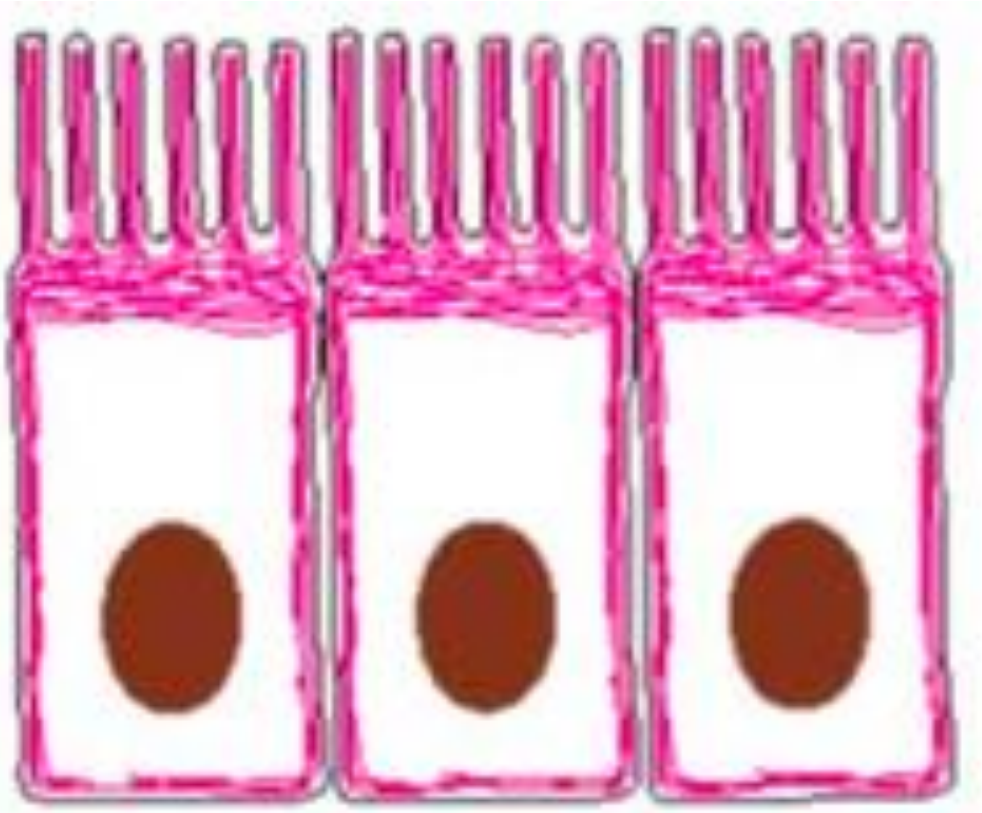
FILAMENTOS de ACTINA / MICROFILAMENTOS

PROTEÍNAS ACESSÓRIAS

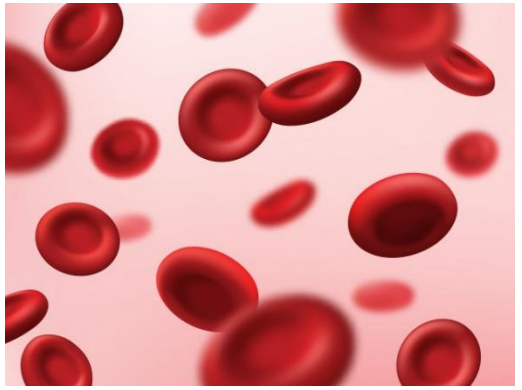


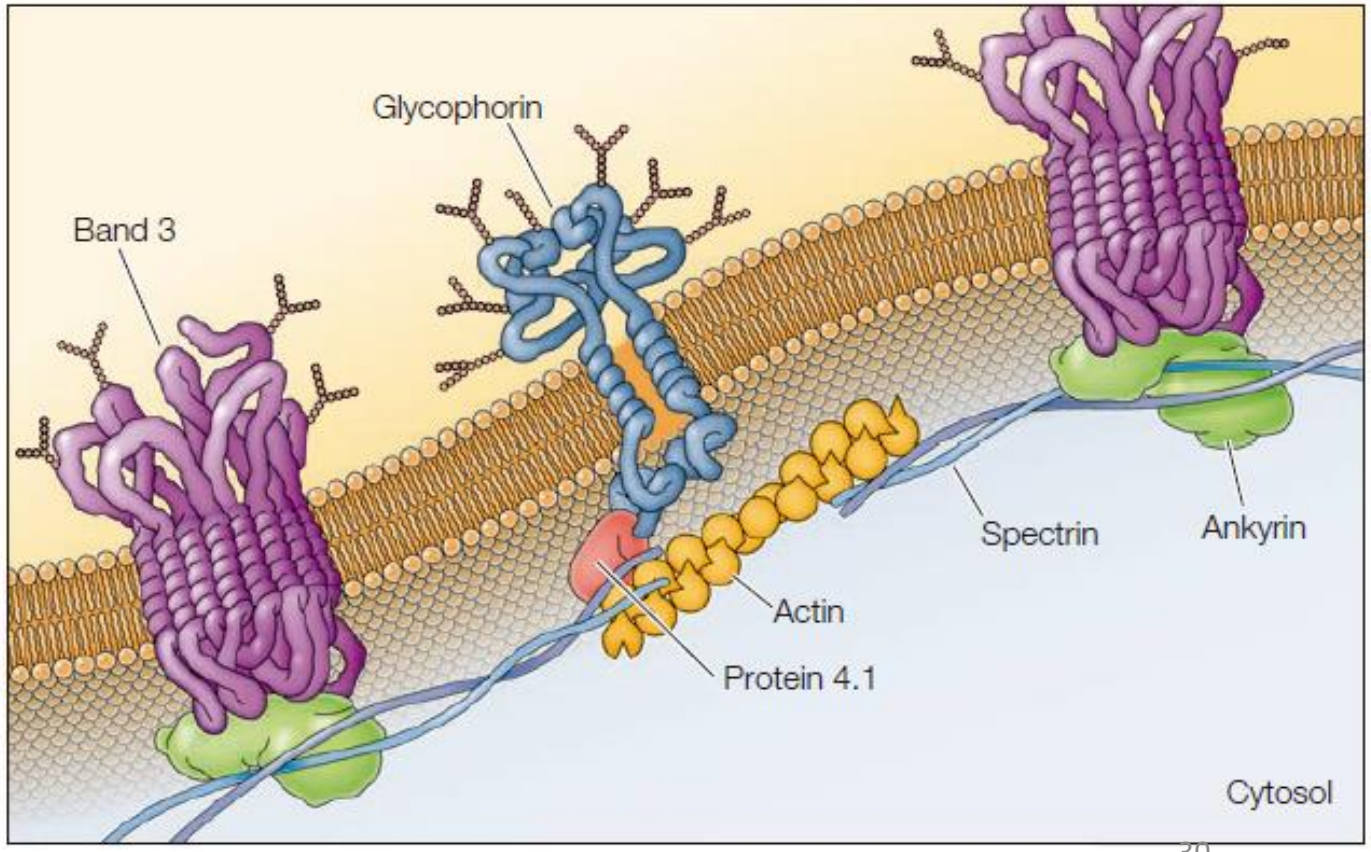
FILAMENTOS de ACTINA / MICROFILAMENTOS

Presença de microfilamento de actina no córtex e polaridade celular

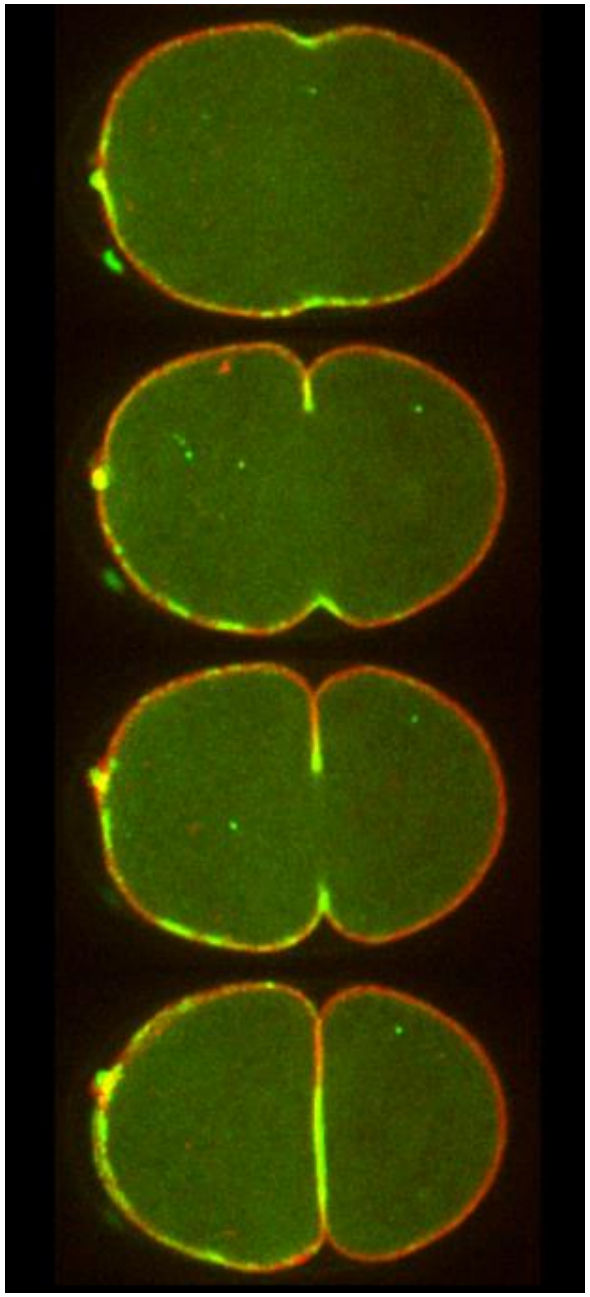


Importância do córtex para a hemácea

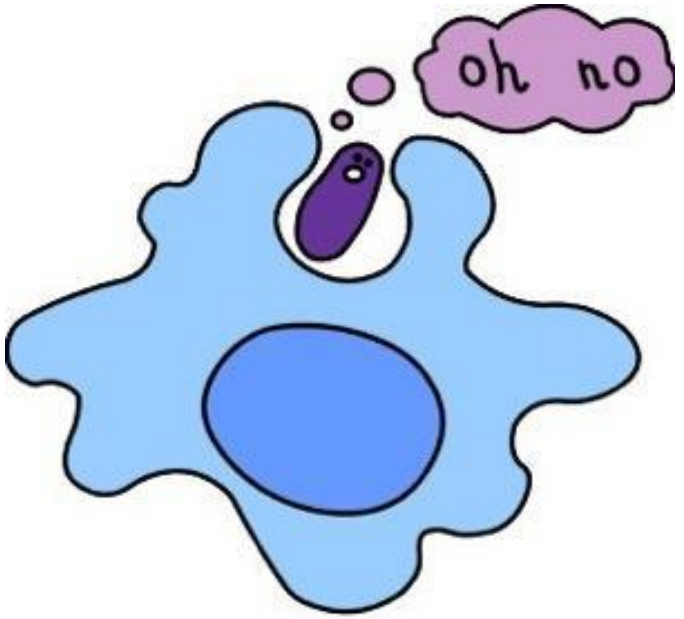




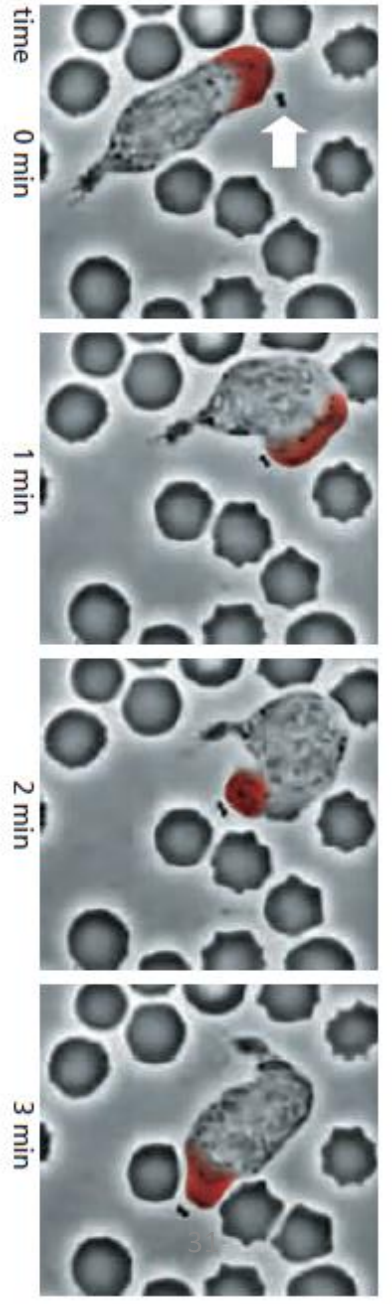
FILAMENTOS de ACTINA / MICROFILAMENTOS



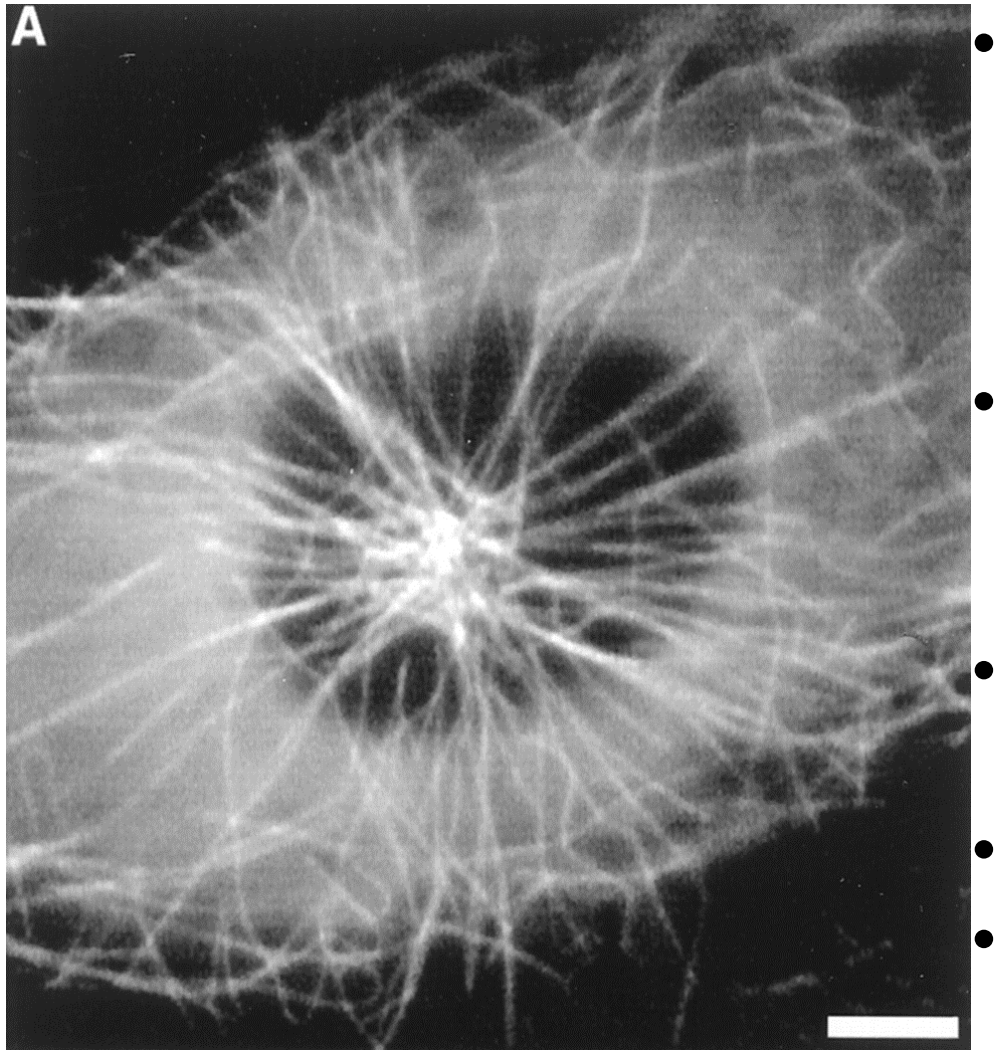
Formação do anel contrátil na citocinese;
Contração não muscular (interação entre actina e miosina)



Alteração do córtex durante fagocitose



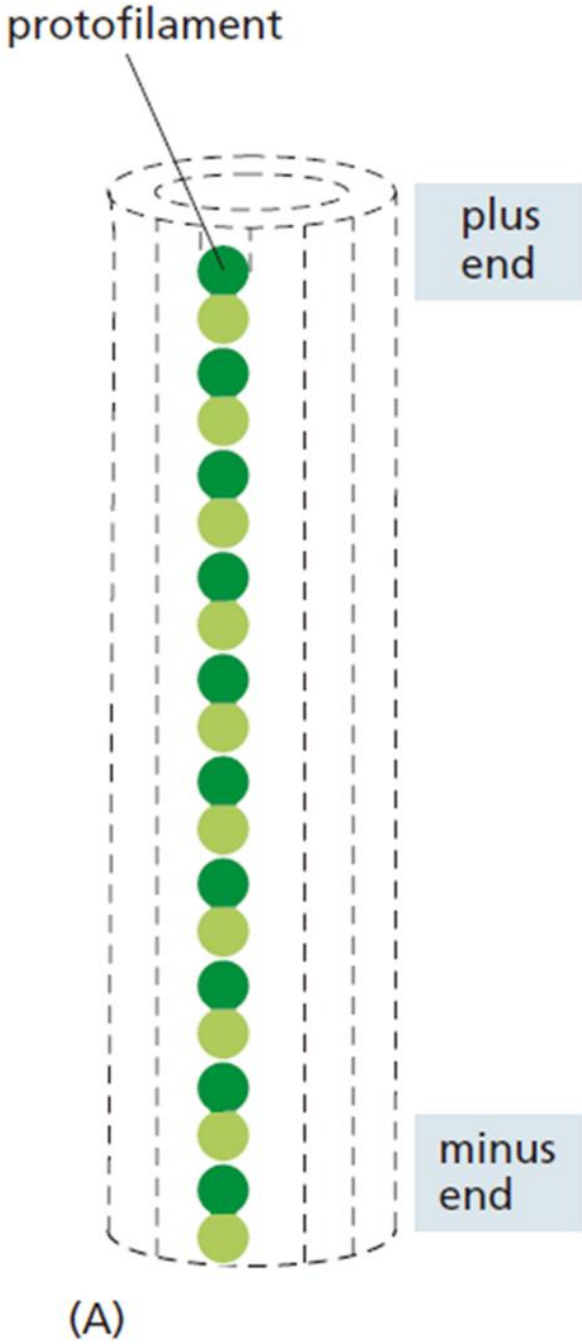
MICROTÚBULOS



- Os microtúbulos compartilham várias propriedades com os microfilamentos;
- São “polímeros” montados a partir de subunidades globulares que interagem de forma não covalente;
- É uma fibra muito dinâmica caracterizada pela rápida associação e dissociação das subunidades;
- Ubíquos nas células eucariotas;
- Possuem polaridade;
- Montagem e desmontagem regulada por GTP/ GDP.

MICROTÚBULOS

tubulin dimer
(= microtubule subunit)



- O microtúbulo é constituído por tubulina;
- A unidade funcional é um heterodímero;
- Formado pela interação não covalente entre α-tubulina e β-tubulina;
- As tubulinas são proteínas globulares (55 kd);
- Existem 6 genes para cada tipo de tubulina, muito conservados na filogenia.

- O encadeamento dos dímeros (não covalente), forma um protofilamento com polaridade;
- A extremidade do protofilamento com α-tubulina é a extremidade (-), a outra com β-tubulina é a (+).

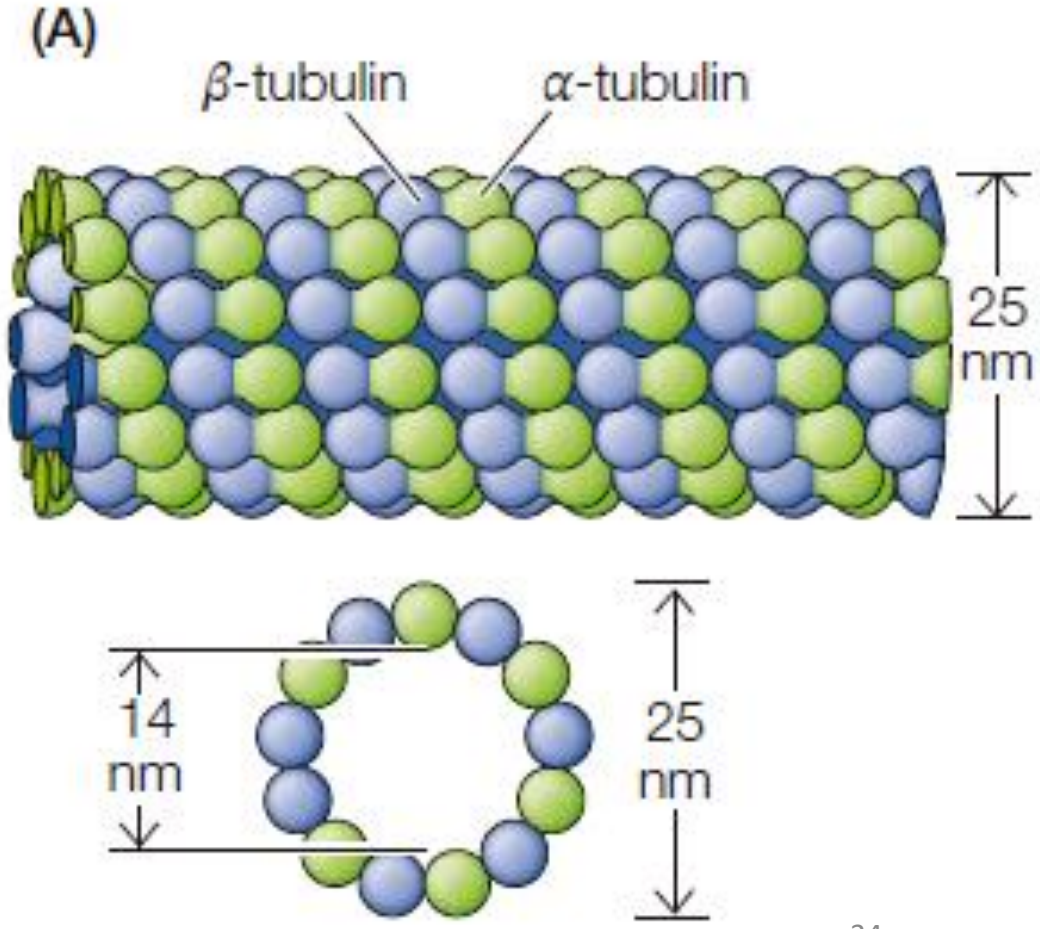
MICROTÚBULOS

- Um microtúbulo é formado por 13 protofilamentos que se associam lateralmente para formar um tubo proteico longo e oco;

- O diâmetro de 25 nm do microtúbulo confere a espessura do filamento;

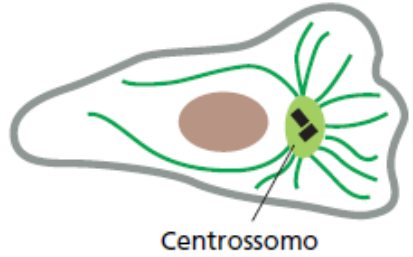
- As tubulinas de um protofilamento interagem lateralmente com proteínas do mesmo tipo de outro protofilamento;

- São filamentos resistentes e não dobráveis;

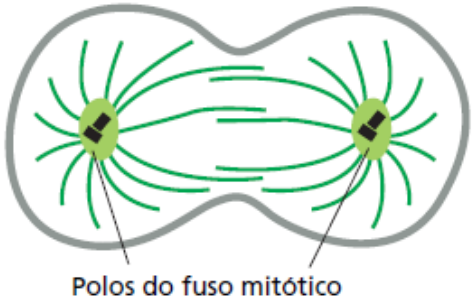


CENTROSSOMO

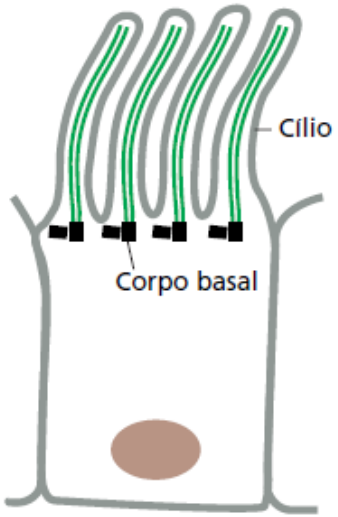
- Nas células animais, os microtúbulos em geral são formados (nucleados) a partir de centros organizadores;
- É comum nas células animais o principal centro organizador ser o centrossomo localizado próximo ao núcleo;
- Mas podem se formar em outras regiões do citoplasma;
- Em células vegetais, em geral encontram-se vários centros organizadores de microtúbulos próximos ao núcleo e ao córtex.



(B) CÉLULA QUE NÃO ESTÁ EM DIVISÃO



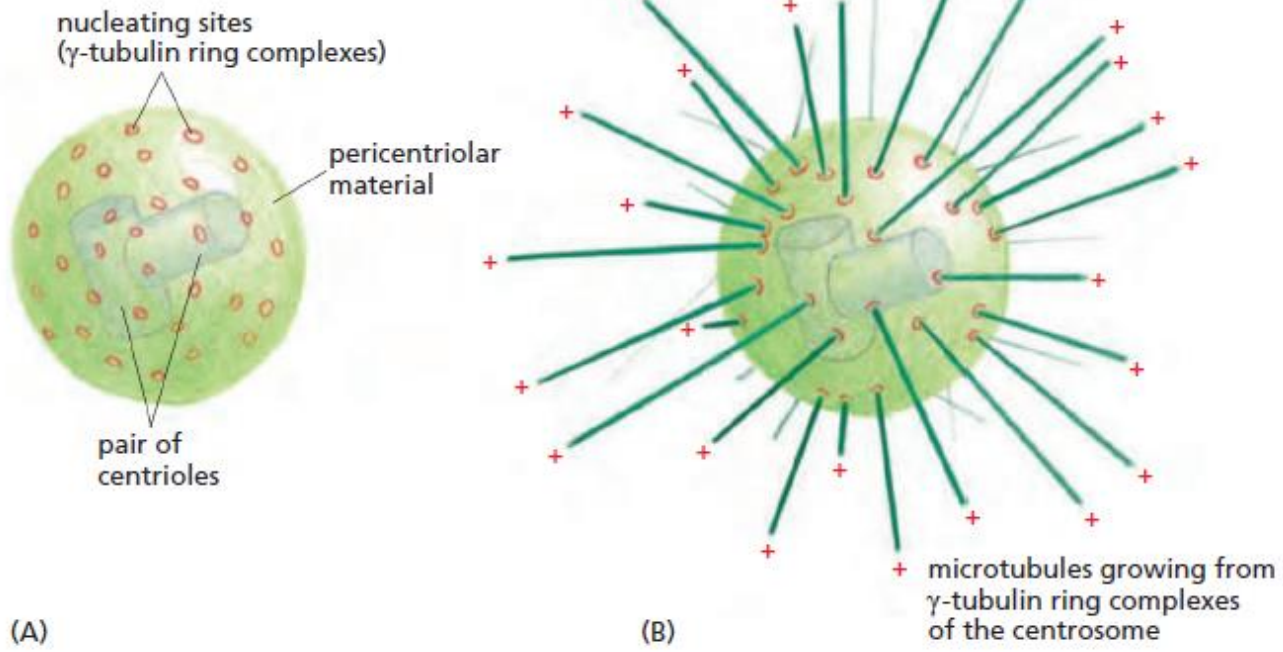
(C) CÉLULA EM DIVISÃO

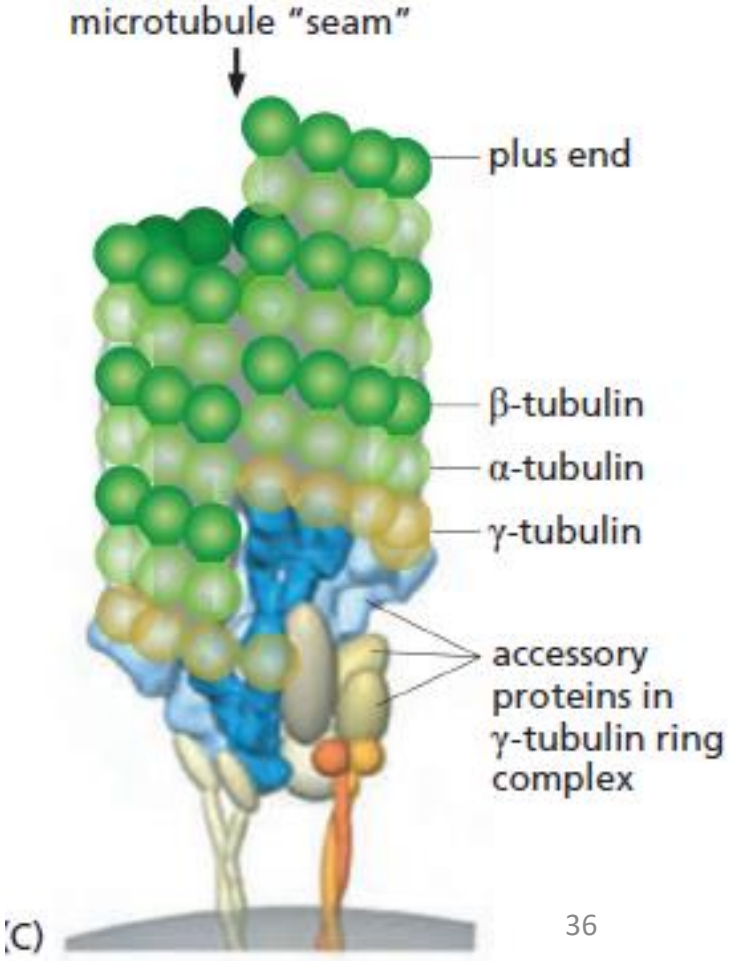


(D) CÉLULA CILIADA

CENTROSSOMO

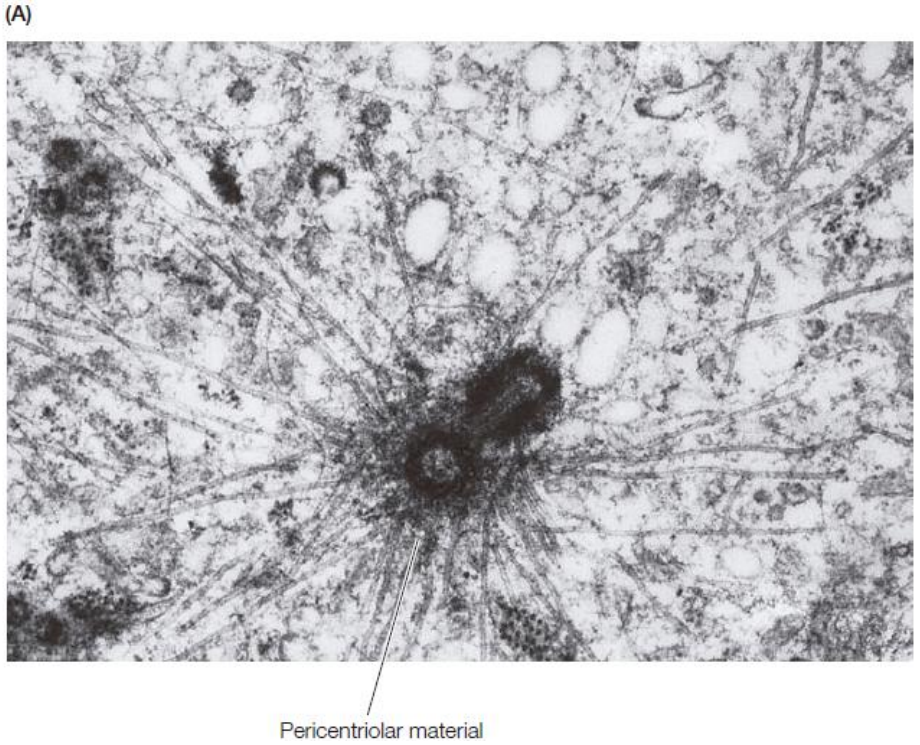
- Uma característica comum no entanto, é que no centro organizador encontra-se a extremidade (-), e a extremidade (+) estende-se a partir dele;
- A γ-tubulina é uma tubulina diferente que se se associa a outras proteínas e forma um anel nucleador para os microtúbulos;
- Nos centros organizadores.

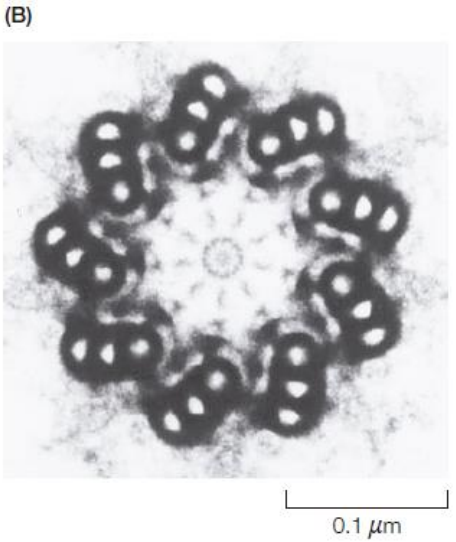


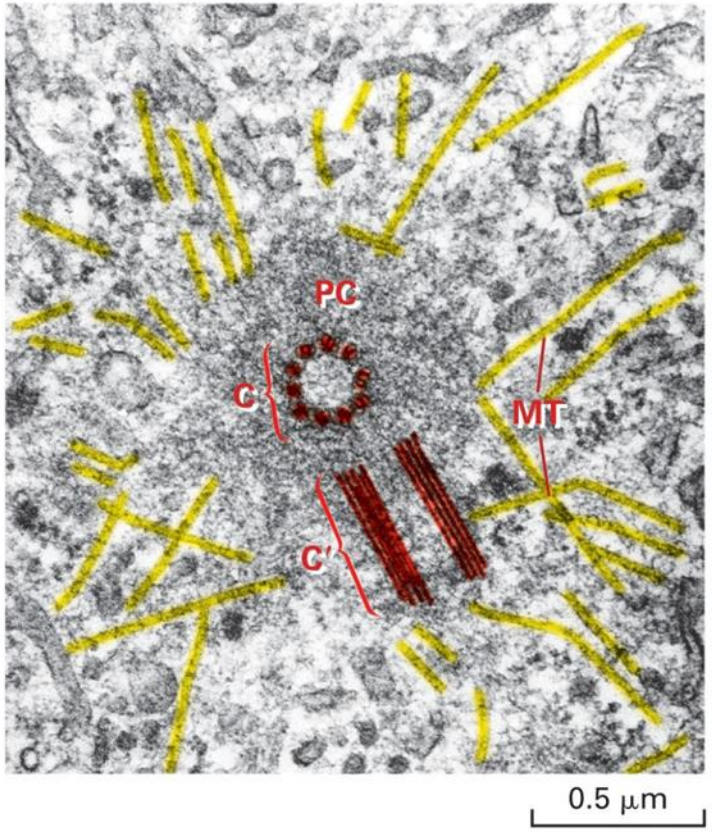


CENTRÍOLOS

- No centrossomo também estão os centríolos;
- Que são estruturas cilíndricas formadas por 9 tripletes de protofilamentos;
- Organizam a região centromérica durante a divisão;
- E estão na base de cílios e flagelos;
- Mas não estão presentes em céls vegetais, eucariotos unicelulares e mesmo alguns tipos de céls animais.

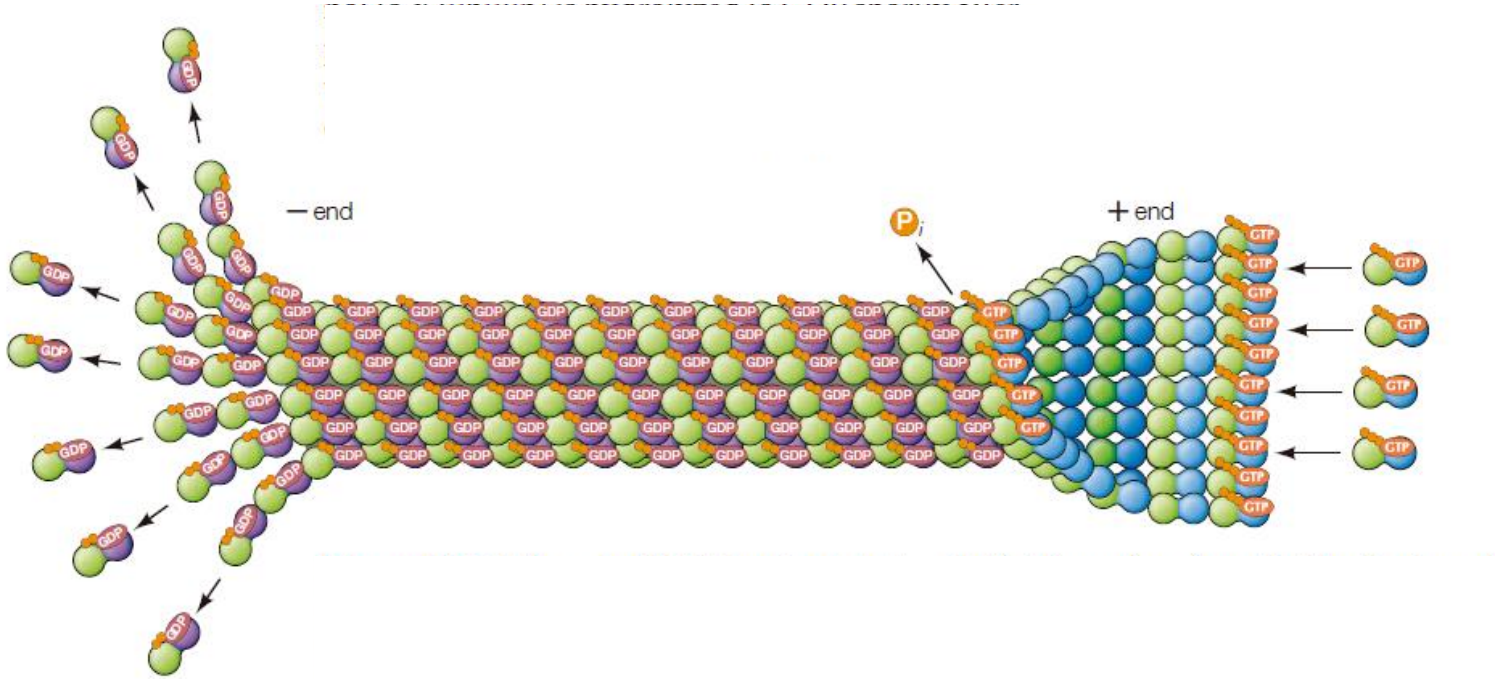






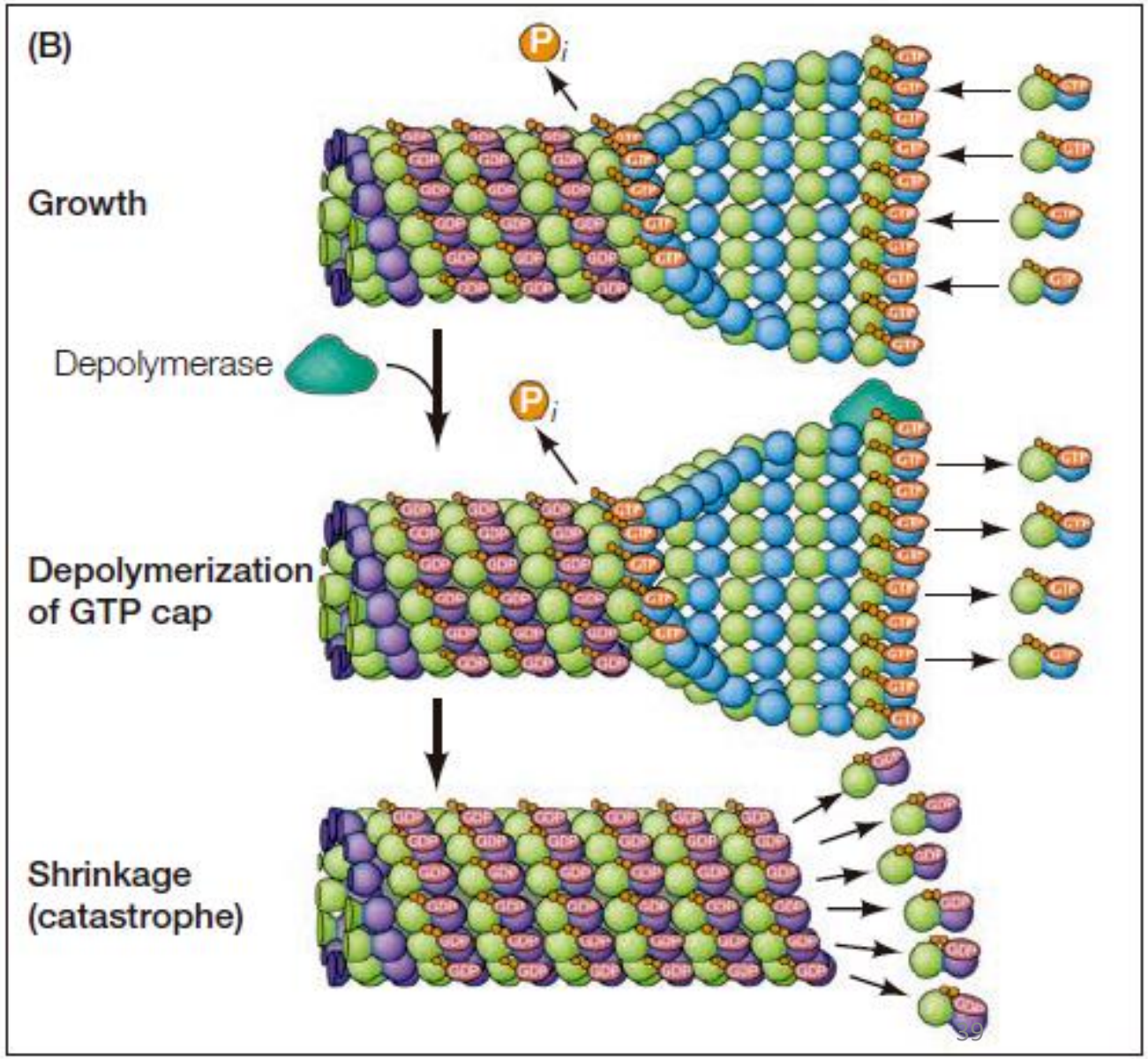
MICROTÚBULOS

- Os microtúbulos são altamente dinâmicos, crescendo pela incorporação de subunidades e encurtando pela perda de subunidades;
- A montagem do protofilamento e do microtúbulo cria uma polaridade nas extremidades, gerando diferenças químicas e funcionais para o filamento;
- Em soluções fora da célula, existe uma tendência das subunidades serem adicionadas a extremidade (+) e removidas na extremidade (-).

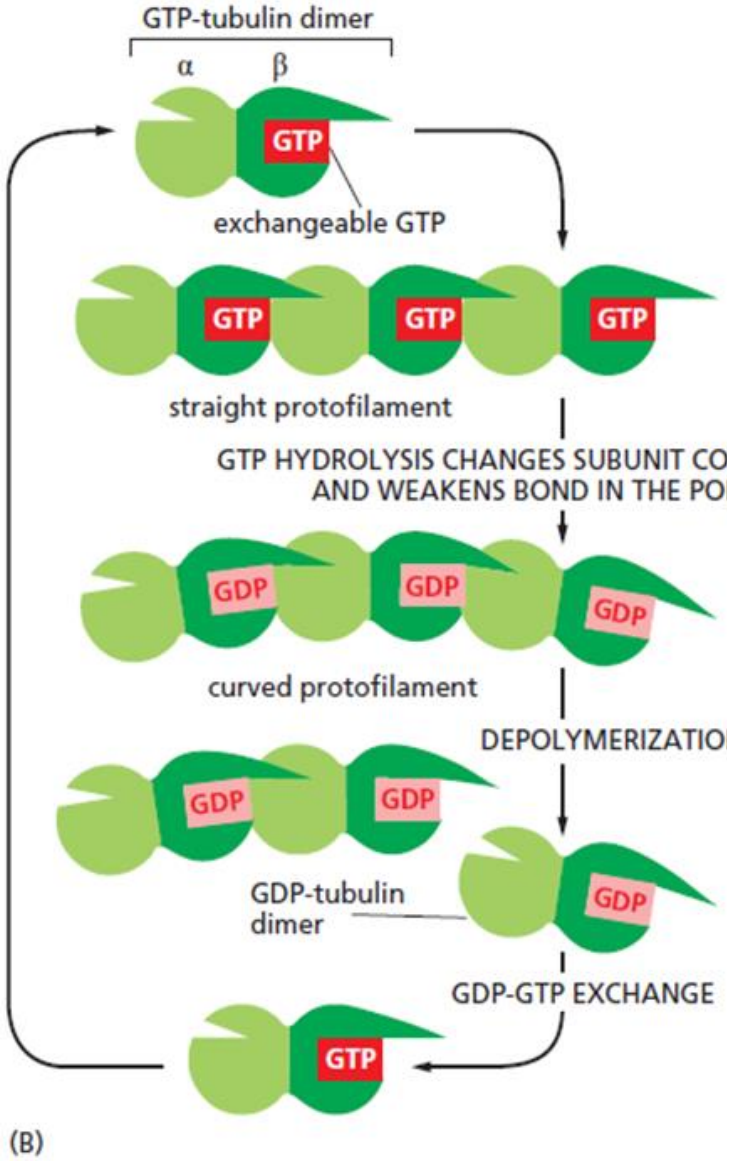


MICROTÚBULOS

- Nas células, a extremidade (–) está normalmente estabilizada nos centros organizadores;
- Realçando as diferenças de funcionamento entre as extremidades;
- Sendo a extremidade (+), aquela onde ocorre a montagem e desmontagem dos microtúbulos;
- Controlado pela associação dos dímeros à GTP ou GDP.



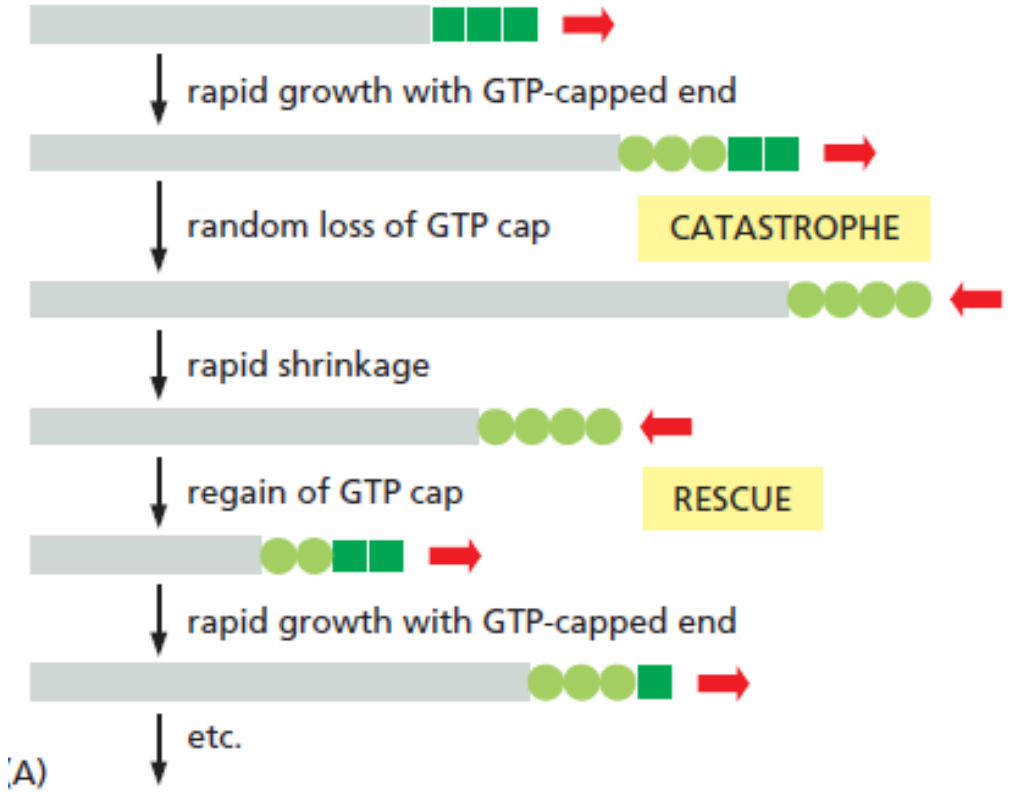
MICROTÚBULOS

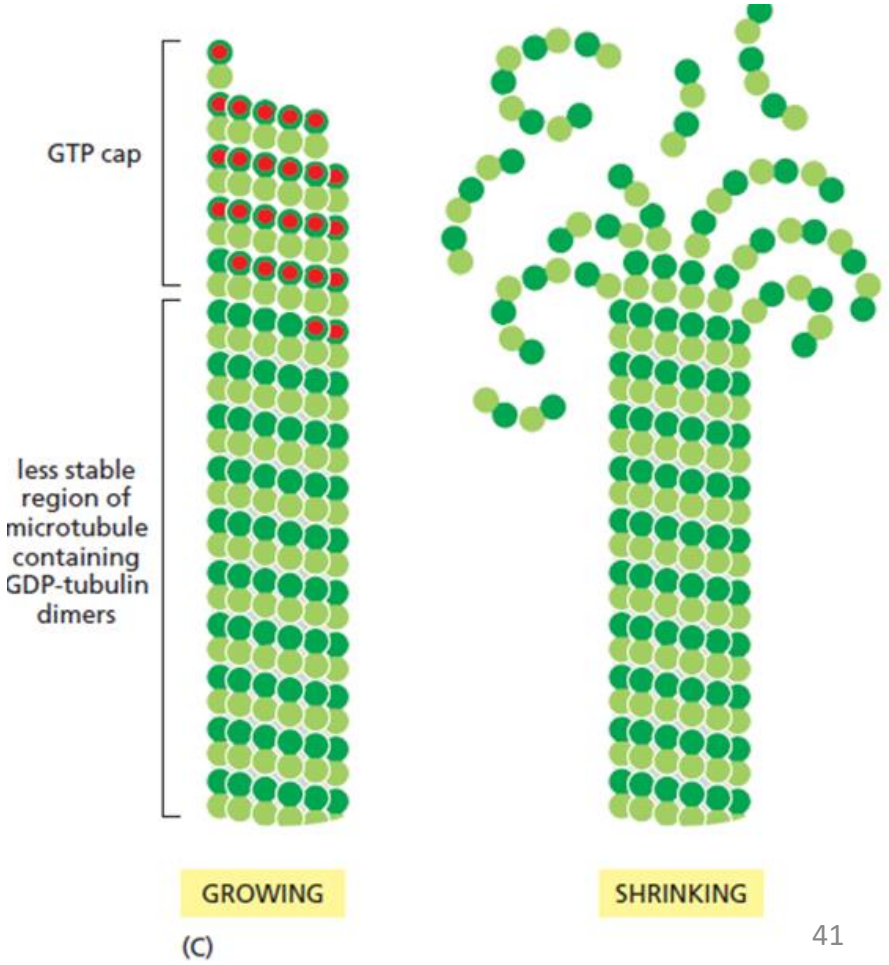


- Processo dependente da interação com GTP/GDP;
- Dímero no citosol com GTP ligado na β-tubulina tende a se associar a uma fibra em formação;
- A incorporação no filamento estimula a hidrólise;
- A forma GDP ligada na β-tubulina tende a dissociação do dímero do polímero;
- Então, o aumento ou diminuição da cadeia depende da velocidade de incorporação;

MICROTÚBULOS

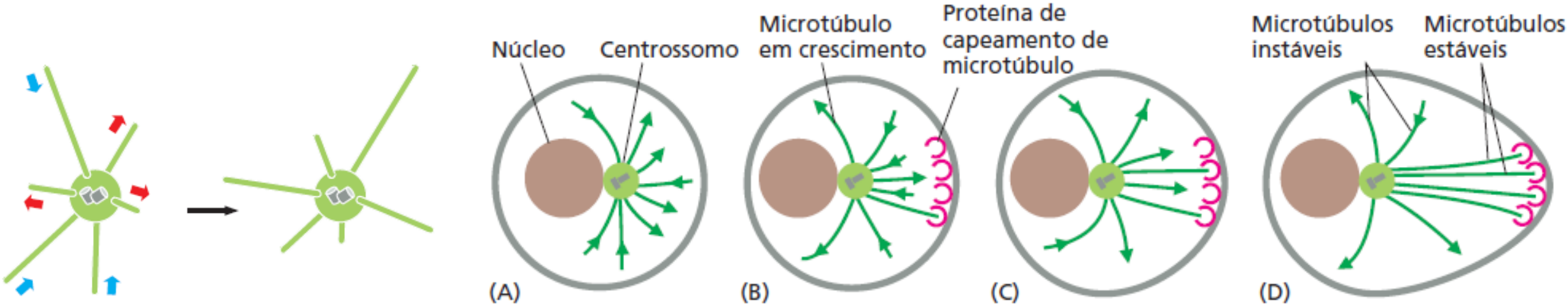
- E esse processo leva a uma instabilidade dinâmica do microtúbulo, que é uma característica intrínseca desse filamento;
- E a consequência é uma desmontagem repentina da fibra seguida de montagem;
- Alternância de ciclos.





MICROTÚBULOS

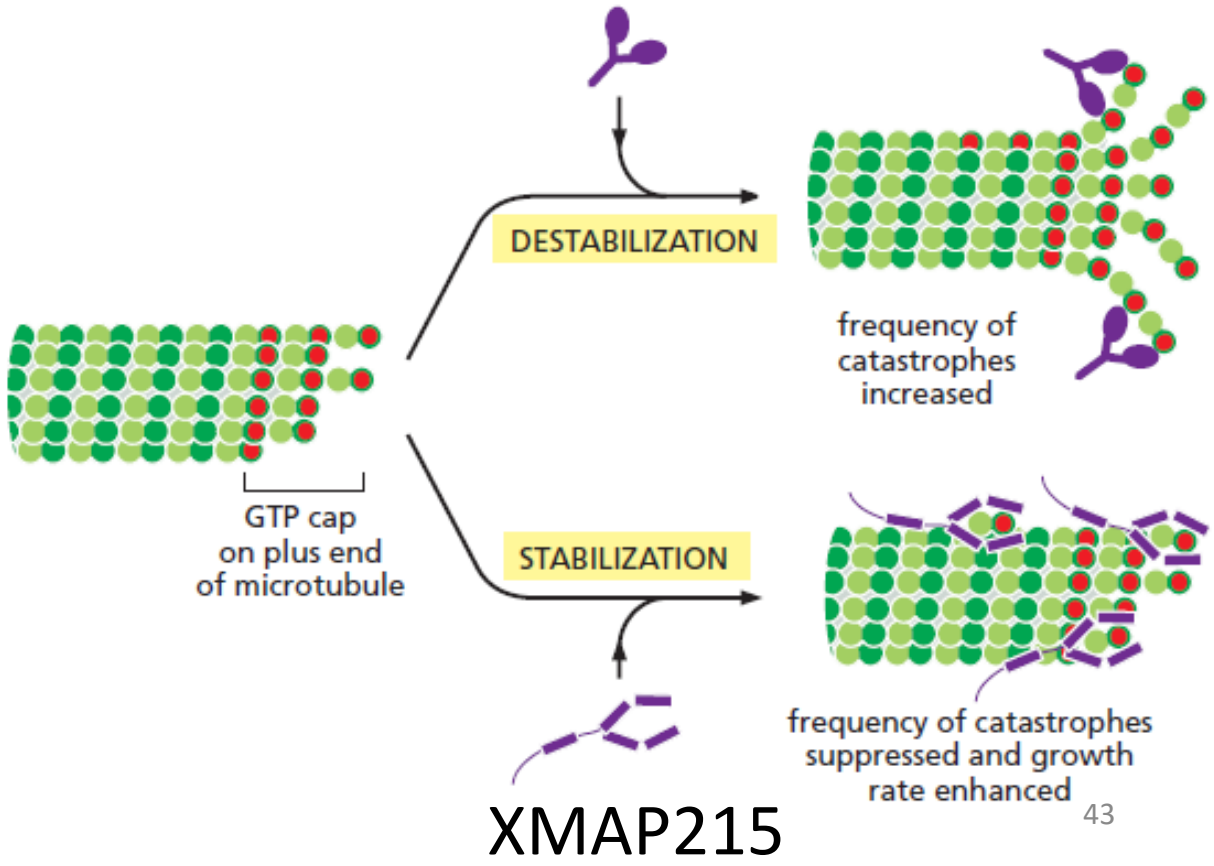
- Os microtúbulos passam por ciclos sucessivos de montagem e desmontagem, independentes uns dos outros;
- Confere um aspecto errático;
- Mas na verdade possibilita uma dinâmica contínua de remodelagem;
- E que pode ser interrompido com a estabilização da extremidade (+) pela interação com outras moléculas ou com estruturas celulares.



MICROTÚBULOS

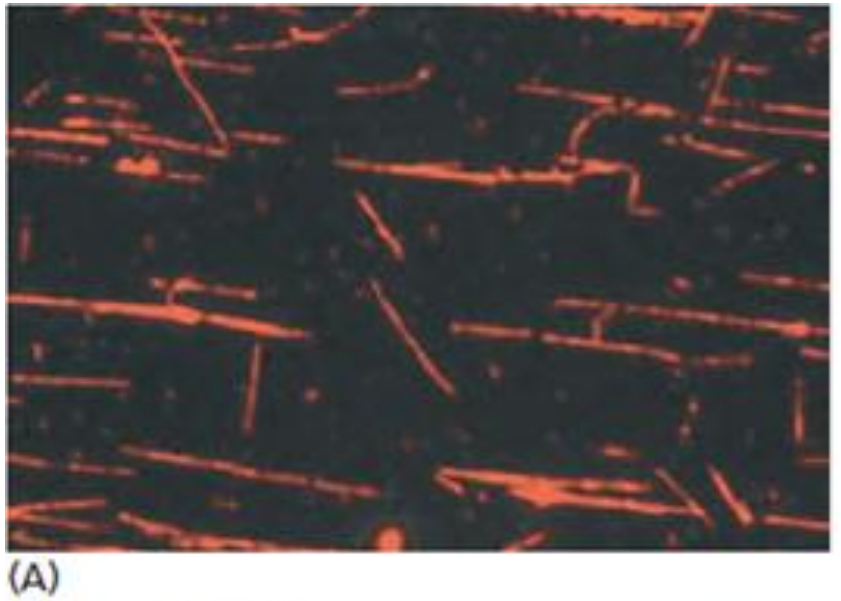
- Proteínas acessórias interagem com tubulinas livres ou microtúbulos, as **MAPs** (**proteínas associadas a microtúbulos**);
- Exercem papel fundamental para especificação/ realização das funções dos microtúbulos;

- Por exemplo, MAPs interagem com a extremidade (+);
- Desestabilizando e promovendo a desmontagem do filamento;
- Ou sua estabilização, promovendo a polimerização.

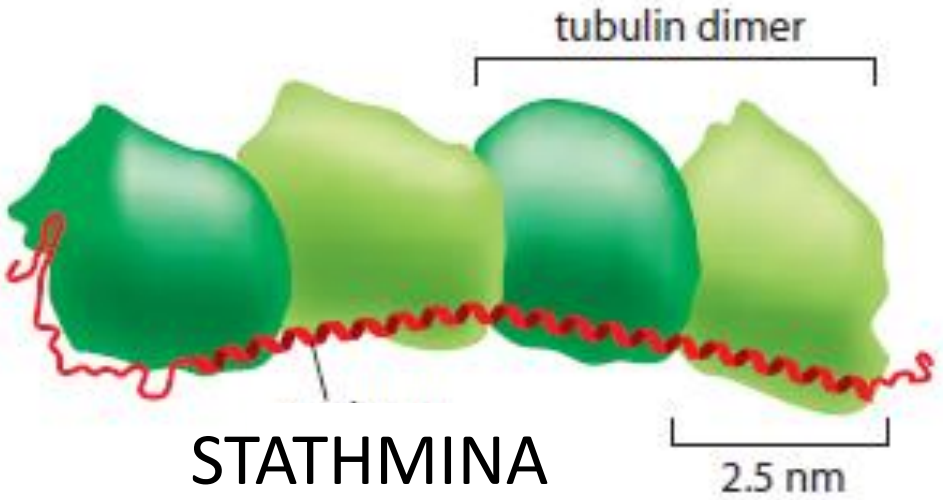


MICROTÚBULOS

- MAPs podem sequestrar subunidades, diminuindo a concentração de tubulina disponível para polimerização;
- A MAP katanina parte a fibra rompendo o arranjo mantido pelas interações dos 13 protofilamentos.



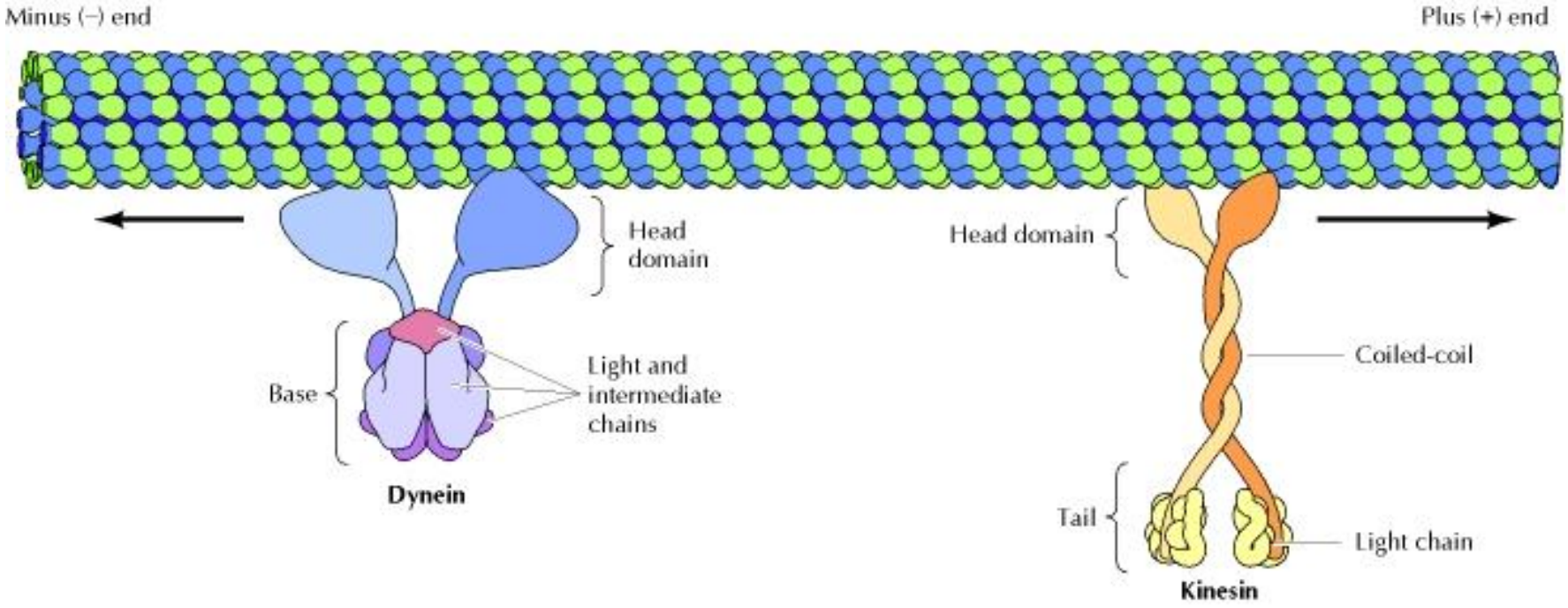
KATANINA



STATHMINA

MICROTÚBULOS

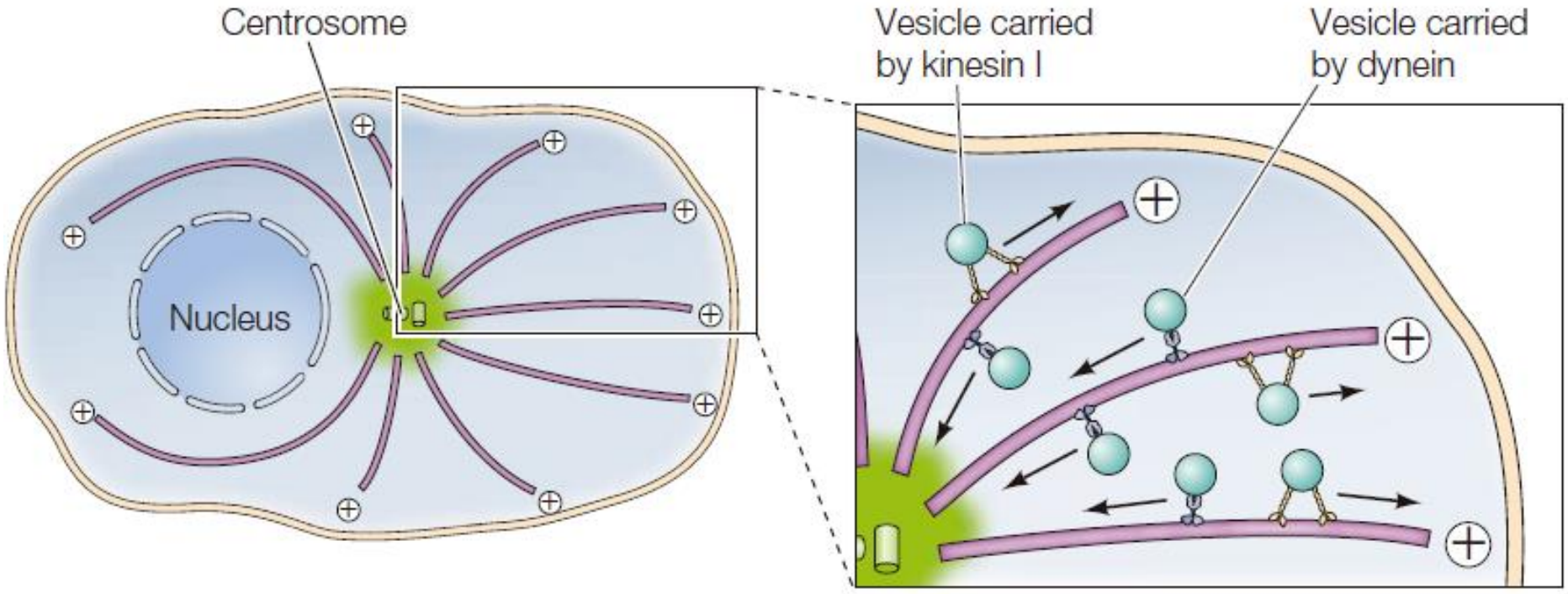
- Um caso particular de **MAPs** são as **proteínas motoras**;
- Que podem realizar diferentes funções nas células, mas estão envolvidas principalmente com o transporte direcionado de moléculas e vesículas;
- Utilizando os microtúbulos como vias;
- As cinesinas transportam sua carga da extremidade " - " para " + ";
- Enquanto as dineínas vão da extremidade " + " para " - ".



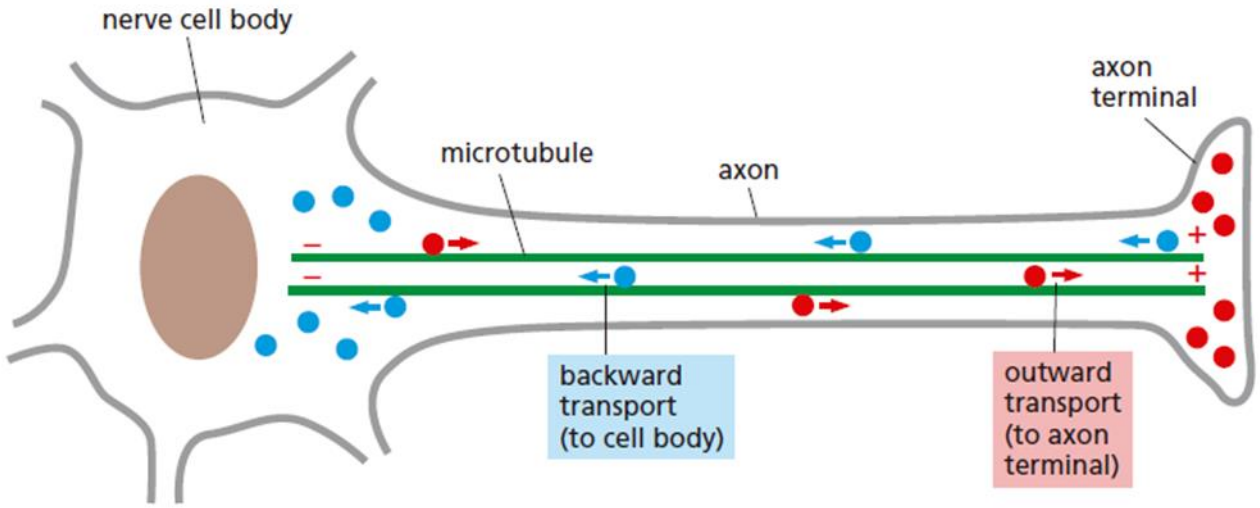
MICROTÚBULOS

- Os microtúbulos e proteínas motoras exercem papel fundamental para a organização interna da célula;
- Transportando de forma direcionada moléculas, vesículas e organelas.

- Transporte de moléculas

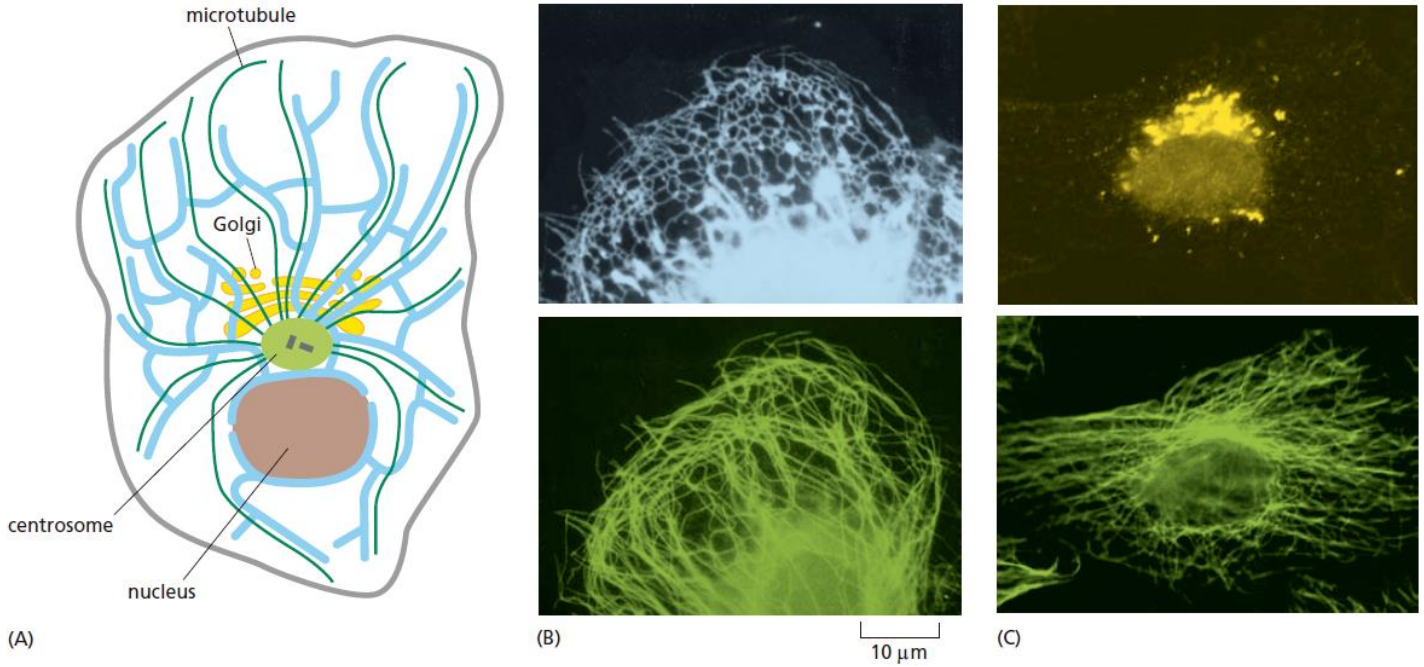


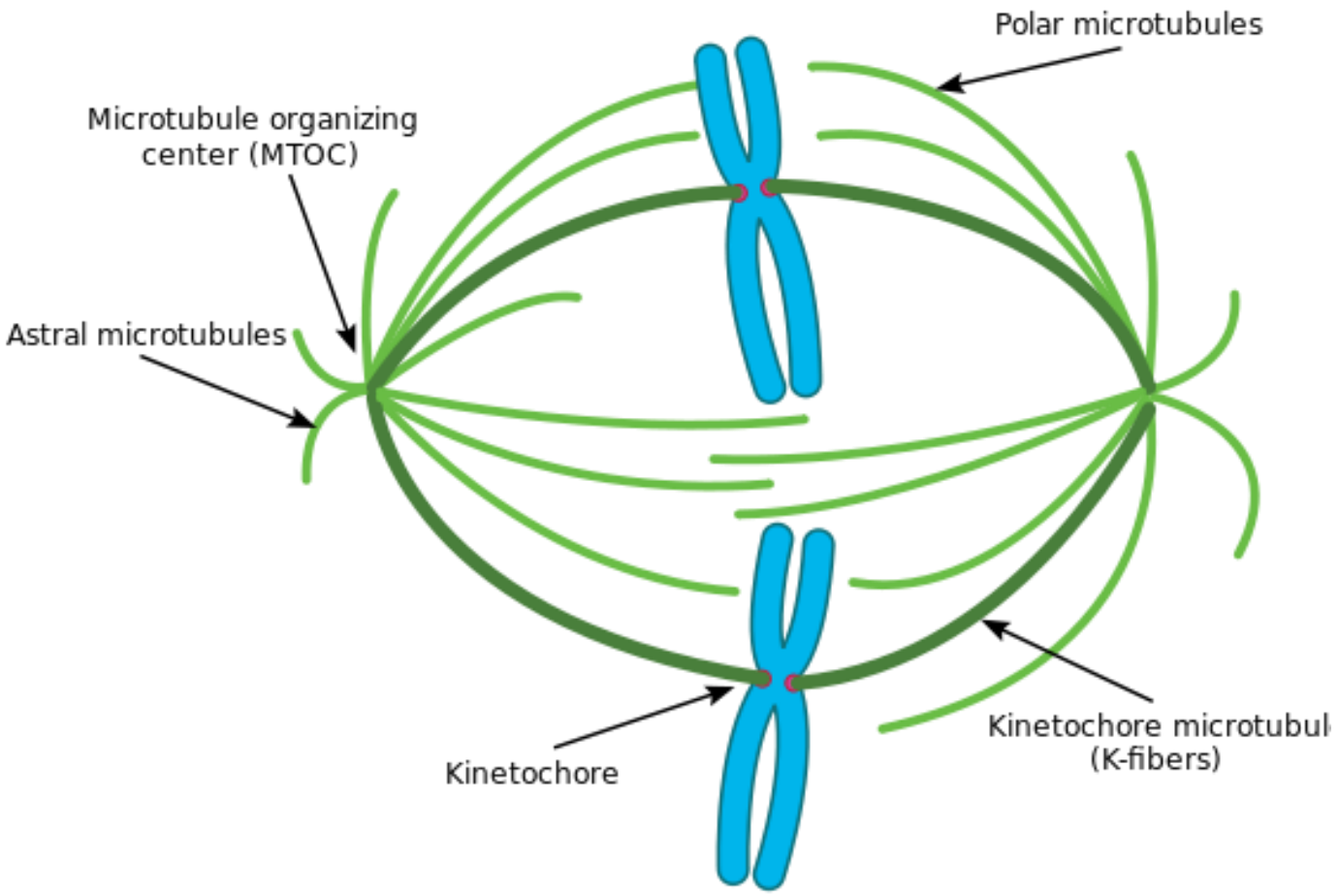
MICROTÚBULOS



- Transporte de vesículas no axônio

- Localização de organelas no citoplasma



MICROTÚBULOS

- Separação de cromátides durante divisão nuclear