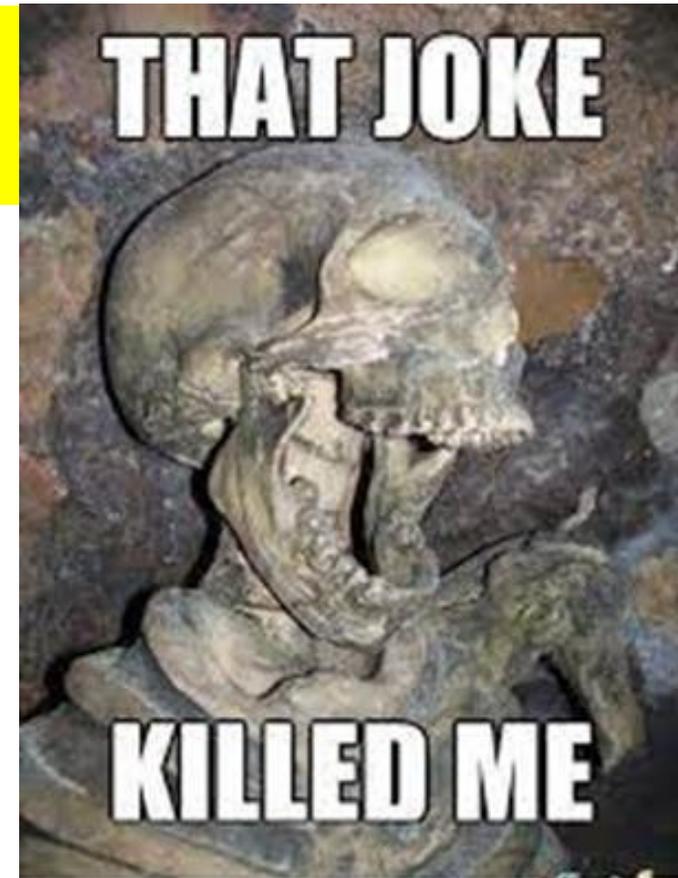
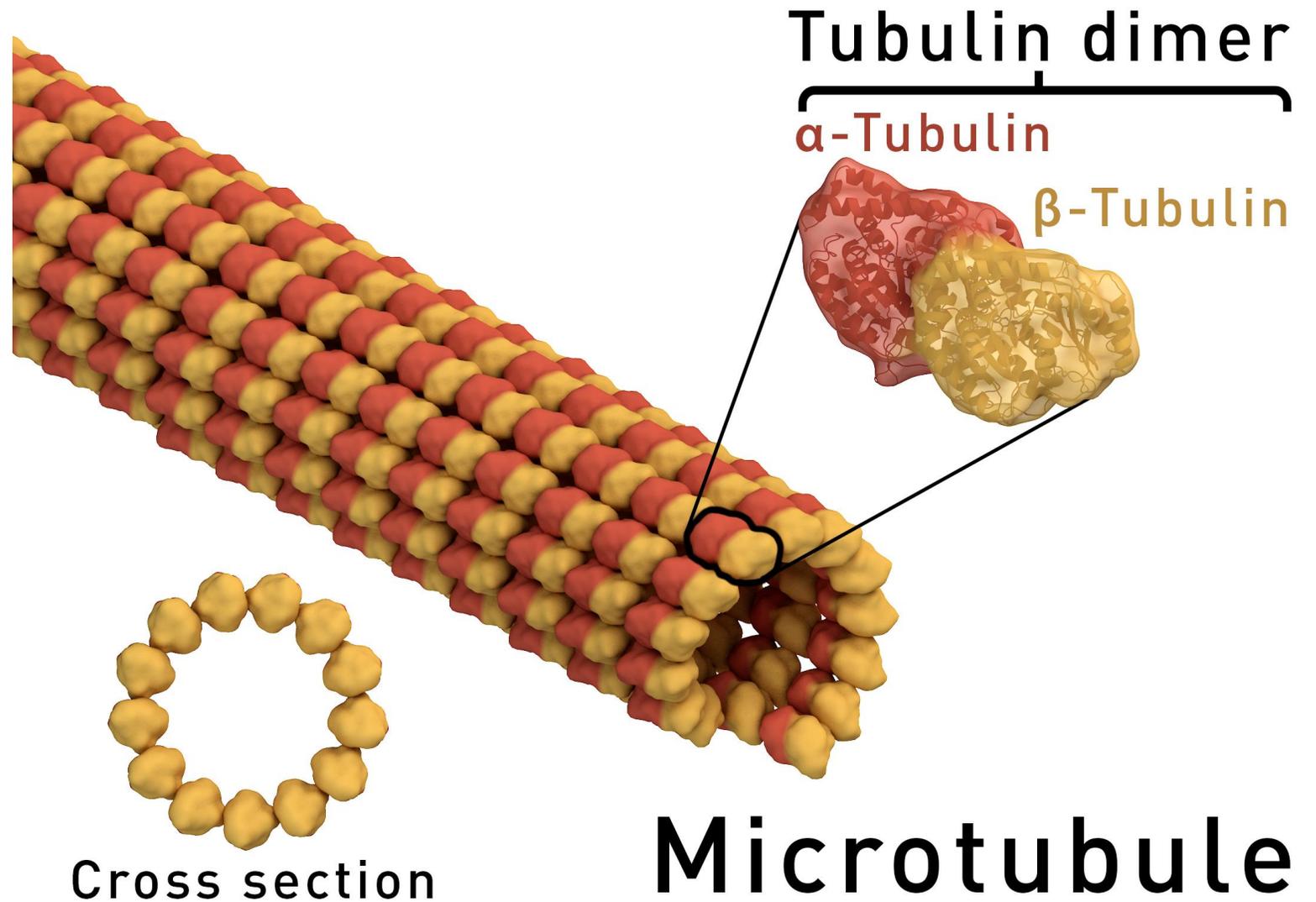


ACH5553 – Genética Geral e Molecular

AULA 8_ CITOESQUELETO

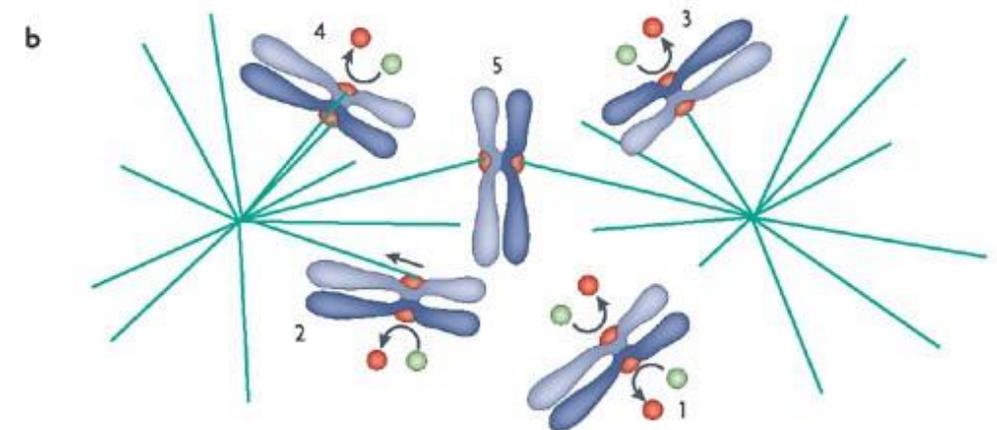
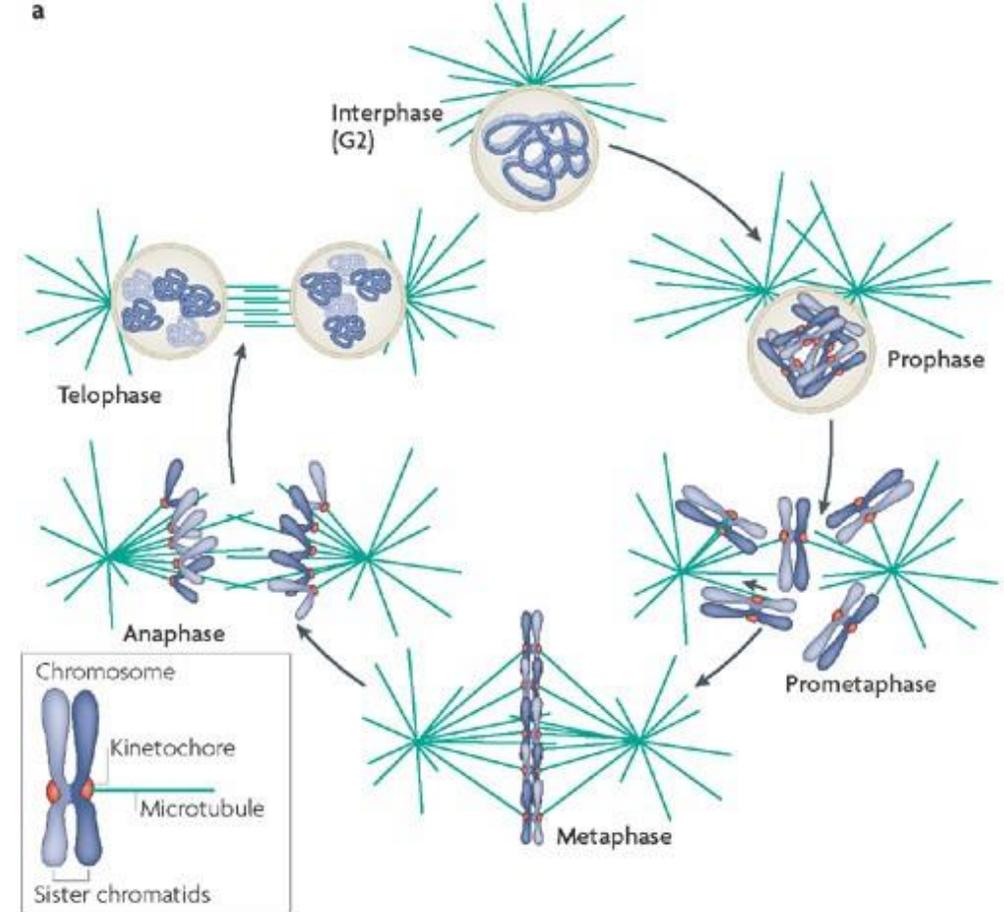


MICROTÚBULOS, a saga continua...



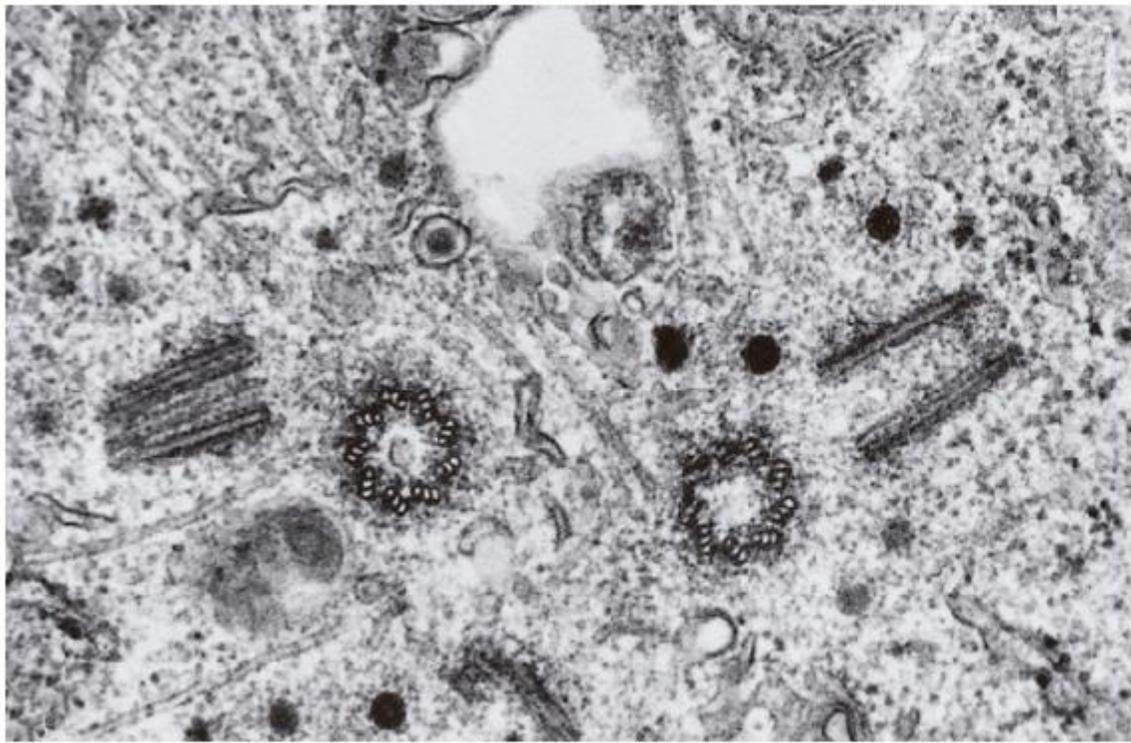
APARELHO MITÓTICO

- O aparelho (fuso) mitótico é um arranjo bipolar de microtúbulos com função essencial na divisão nuclear;
- Onde exerce diferentes papéis.



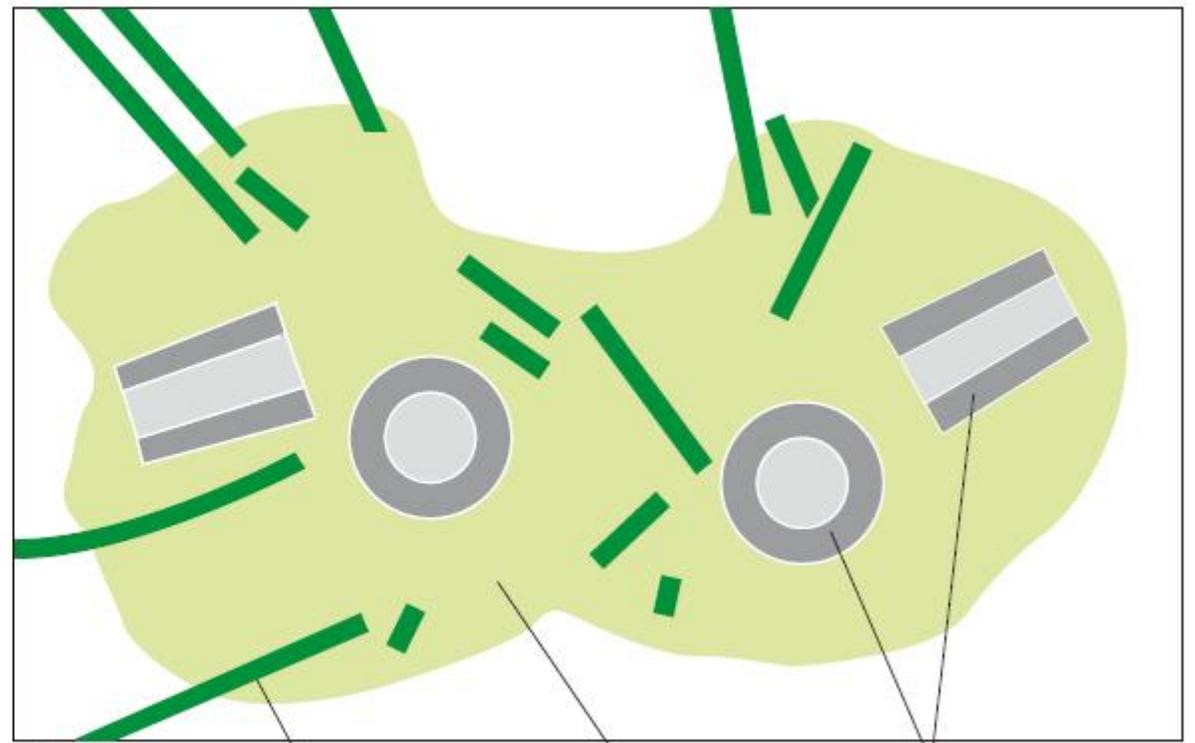
APARELHO MITÓTICO

- As estruturas responsáveis pela formação do aparelho mitótico são as regiões organizadoras de microtúbulos;
- Ou centrossomos (com a presença de centríolos).



(A)

1 μm



(B)

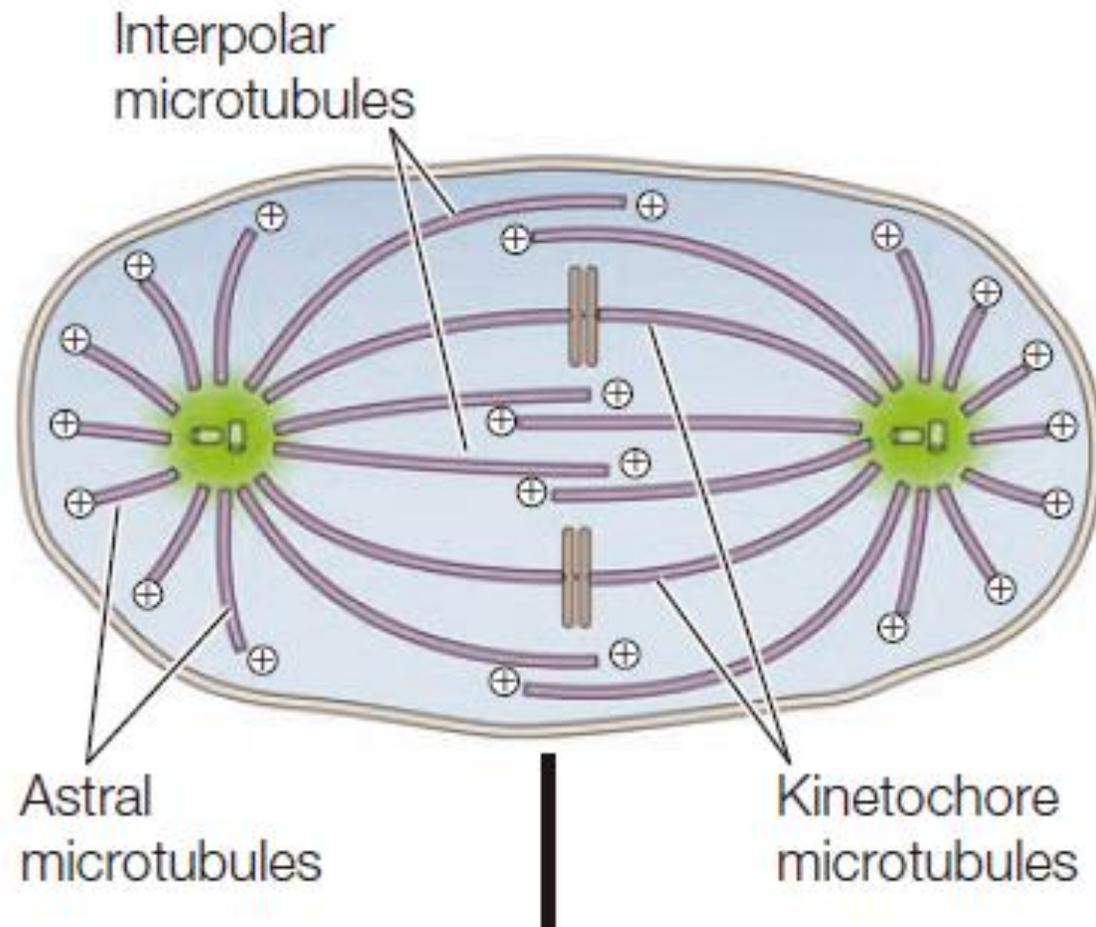
microtubule

pericentriolar
material

pair of centrioles

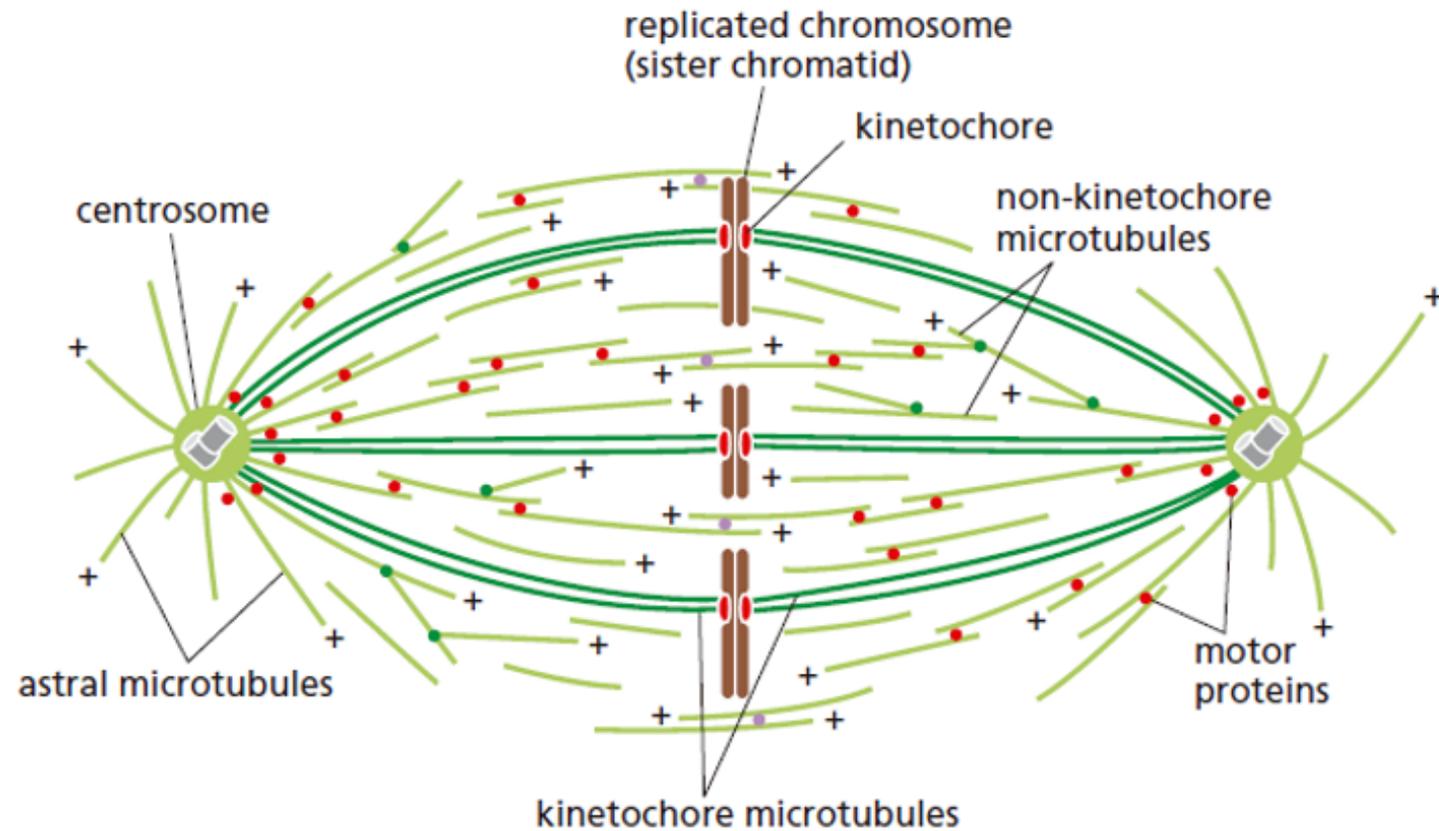
APARELHO MITÓTICO

- Diferentes tipos de microtúbulos são formados no aparelho mitótico.



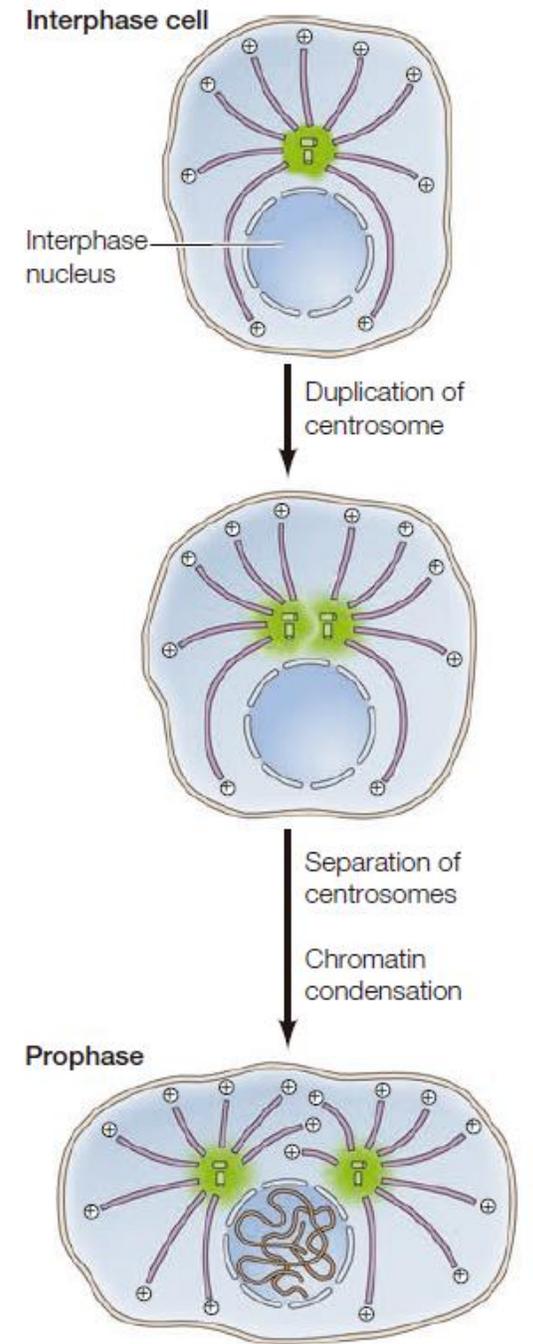
APARELHO MITÓTICO

- Diferentes tipos de proteínas acessórias estão envolvidas com os microtúbulos do fuso mitótico;
- Nucleadoras de microtúbulos e eguladoras da montagem e desmontagem;
- Proteínas que interligam filamentos;
- Proteínas motoras que interligam e movimentam os microtúbulos.



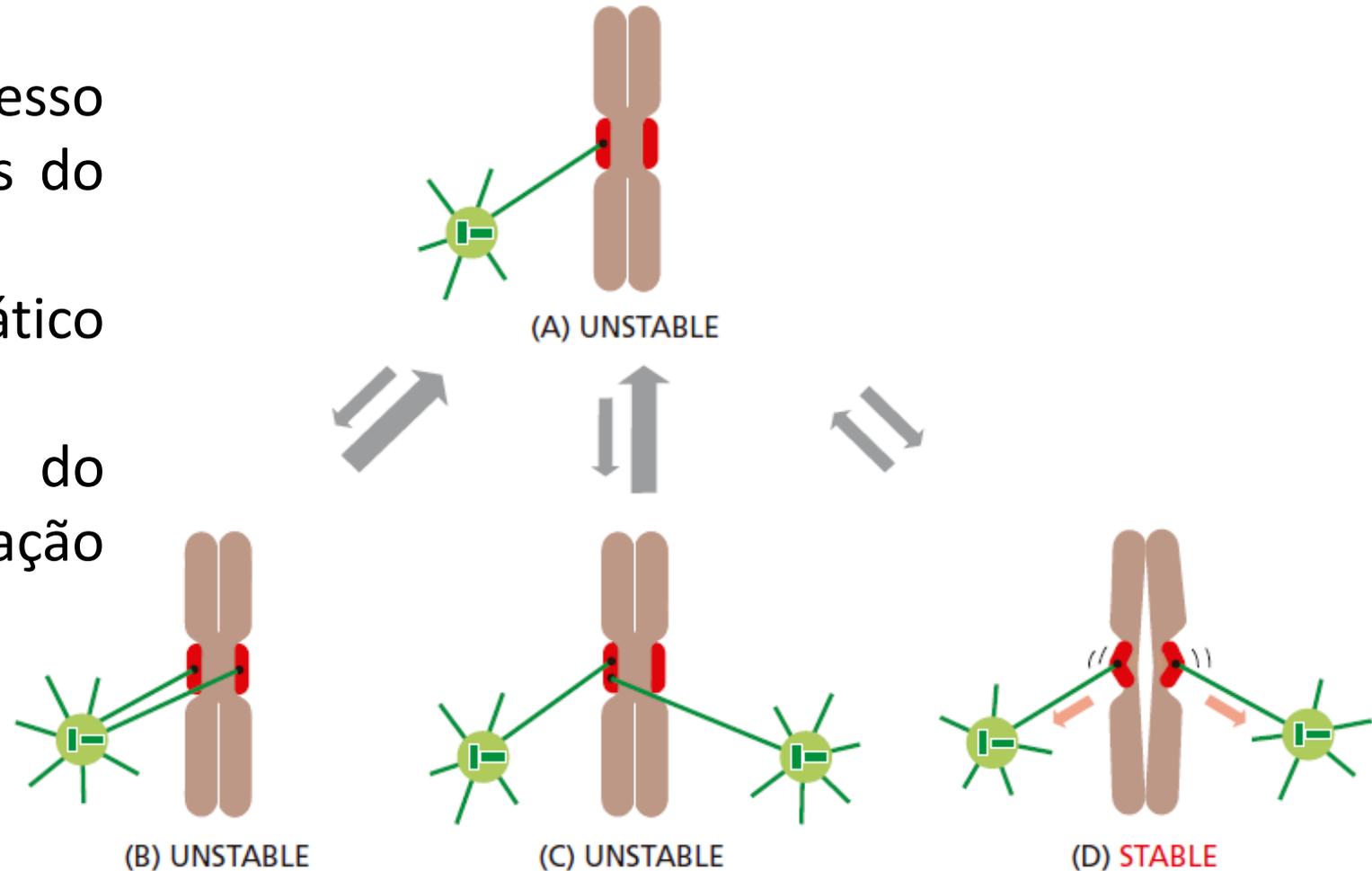
APARELHO MITÓTICO

- A duplicação do centróssomo e de todas suas estruturas acontece antes da divisão nuclear, na intérfase;
- Imediatamente antes da prófase, centróssomos duplicados migram para lados opostos das células;
- Com o rompimento do núcleo, ocorre drástico rearranjo dos microtúbulos celulares;
- Incrementando-se a taxa de desmontagem (catástrofe), microtúbulos interfásicos são desfeitos e as subunidades são realocadas para a nucleação de microtúbulos, com o aumento da taxa de polimerização, nos centróssomos.



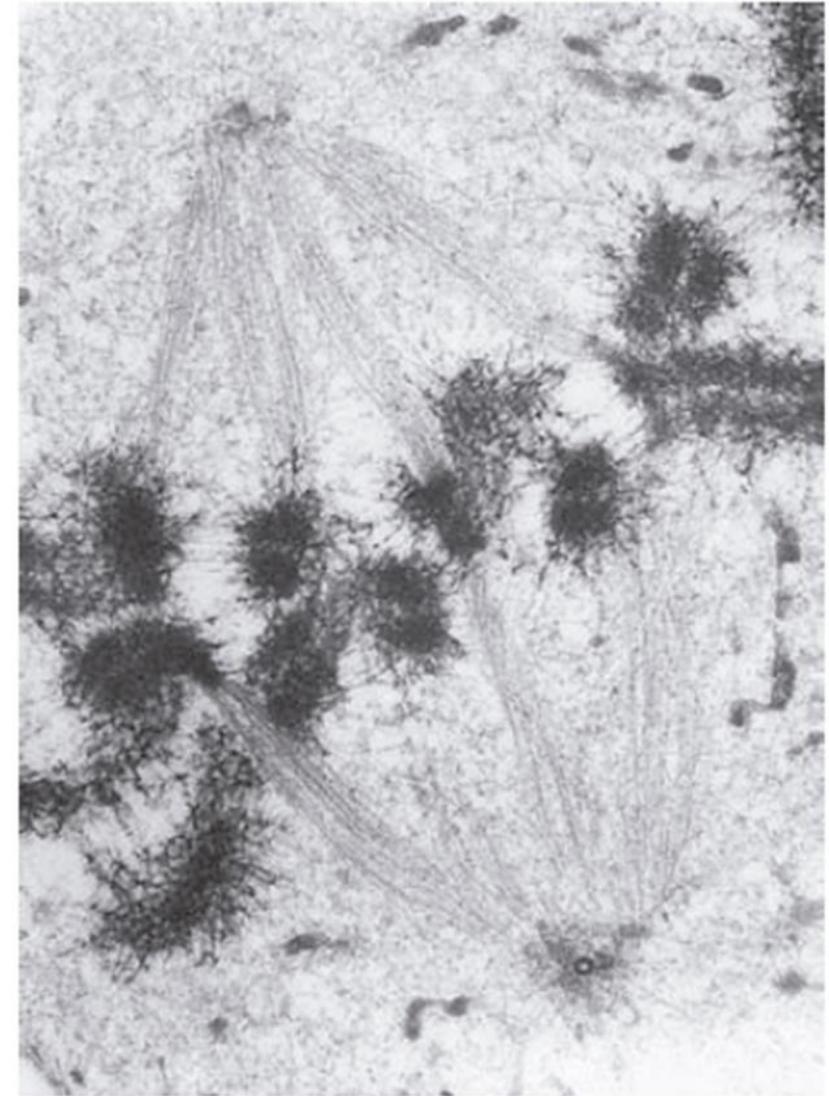
APARELHO MITÓTICO

- A primeira atuação do aparelho mitótico, é para a correta interação entre microtúbulos entre si e destes com a região do centrômero;
- E também, para o correto posicionamento dos cromossomos na região equatorial da célula;
- Etapa fundamental desse processo é a interação de microtúbulos do cinetócoro com seus alvos;
- O que é um movimento errático de tentativa e erro;
- Até que os microtúbulos do cinetócoro estejam em situação estável.



APARELHO MITÓTICO

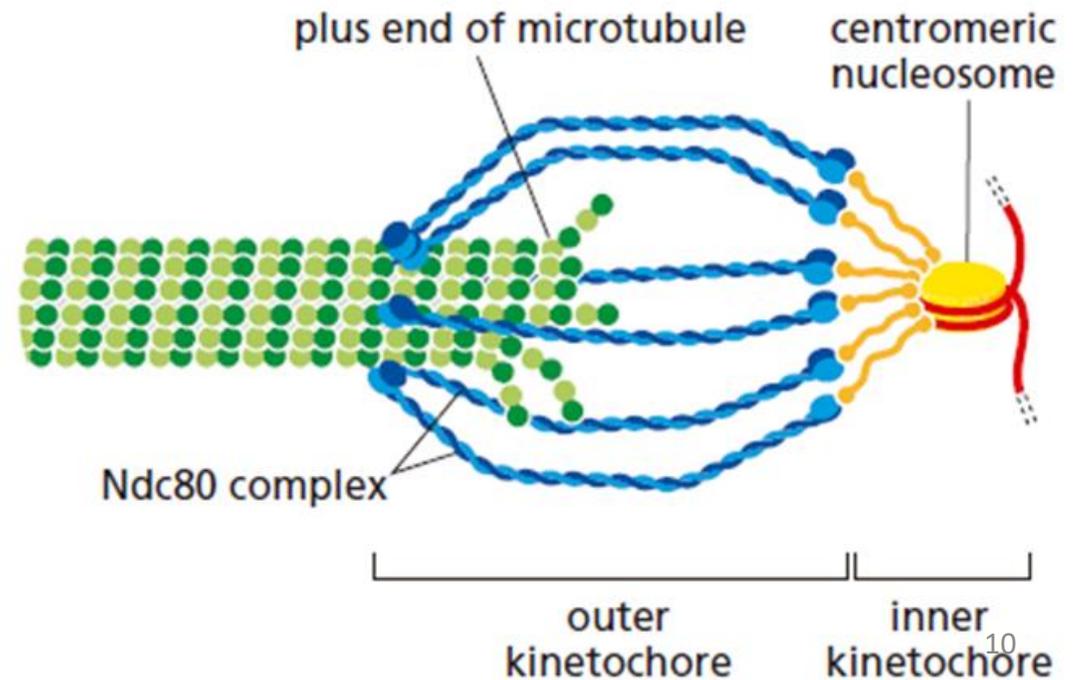
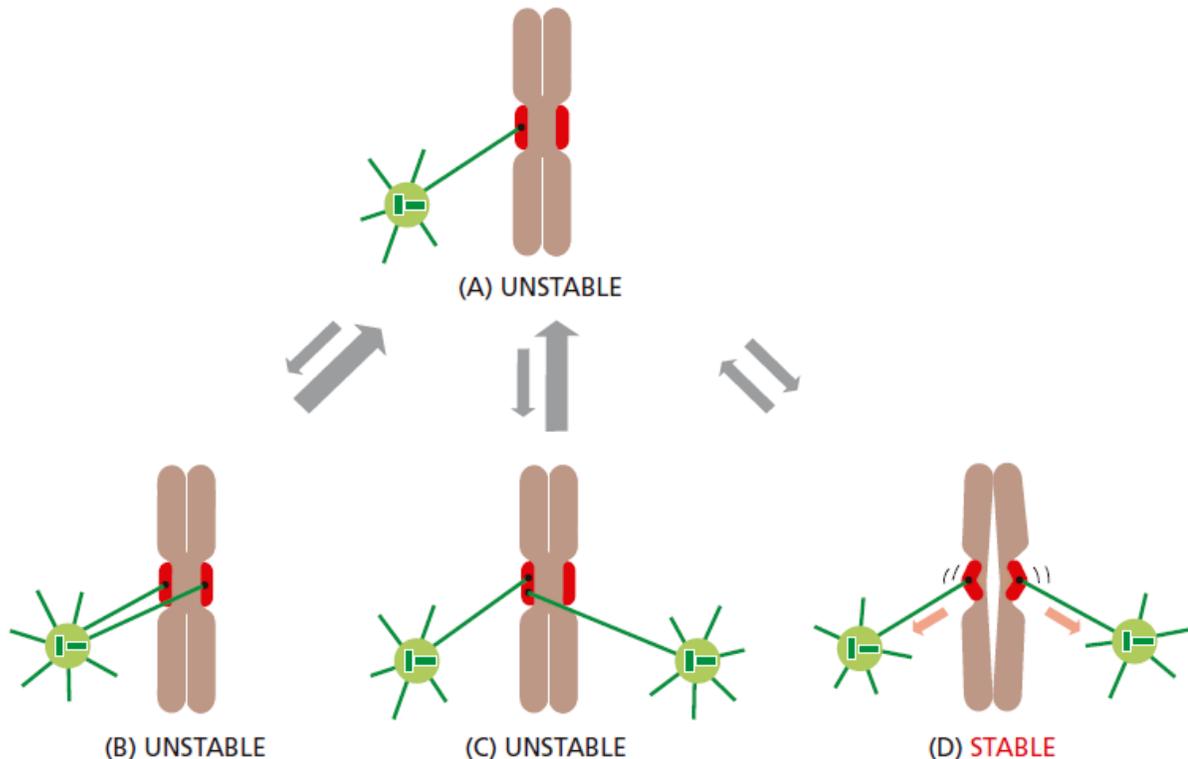
- A estabilidade acentua a afinidade e a nucleação de um feixe formado por filamentos de microtúbulos do cinetócoro.
- A partir de então, dois processos sucessivos contribuem para a separação das cromátides durante a anáfase;
- Que acontecem na sucessão e por isso são denominadas de anáfase A e anáfase B.



2 μ m

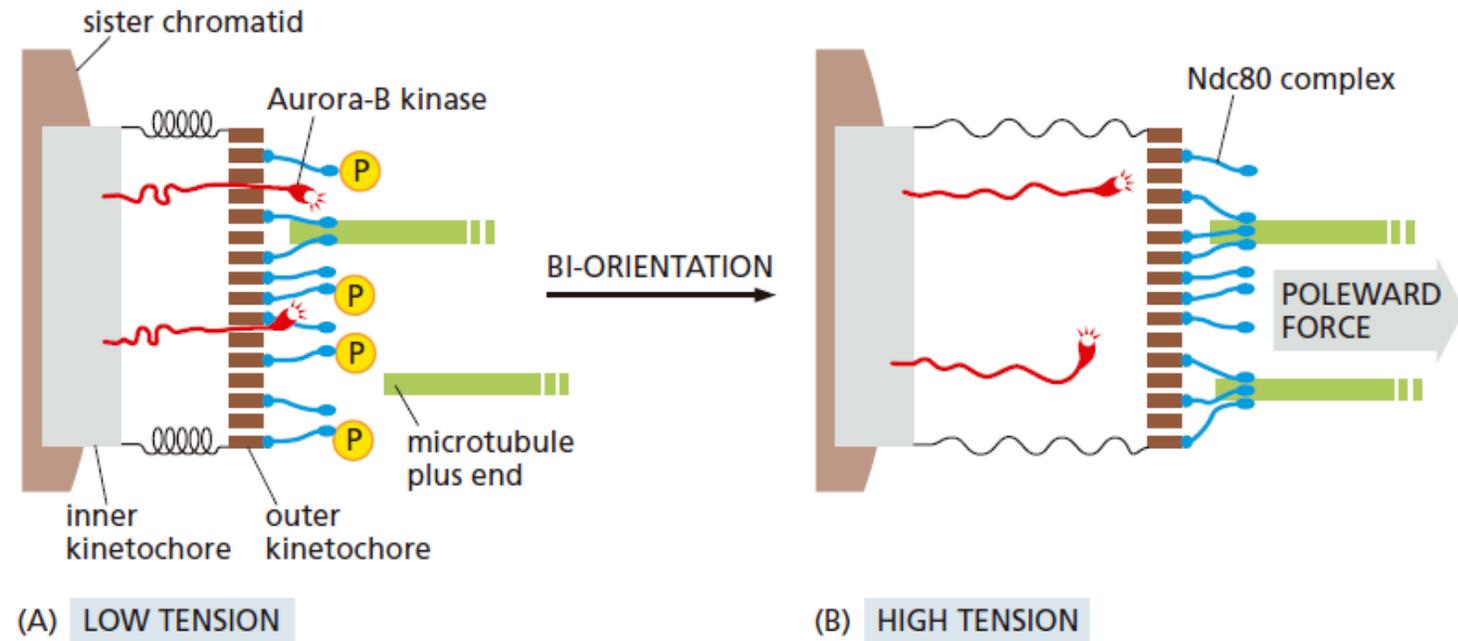
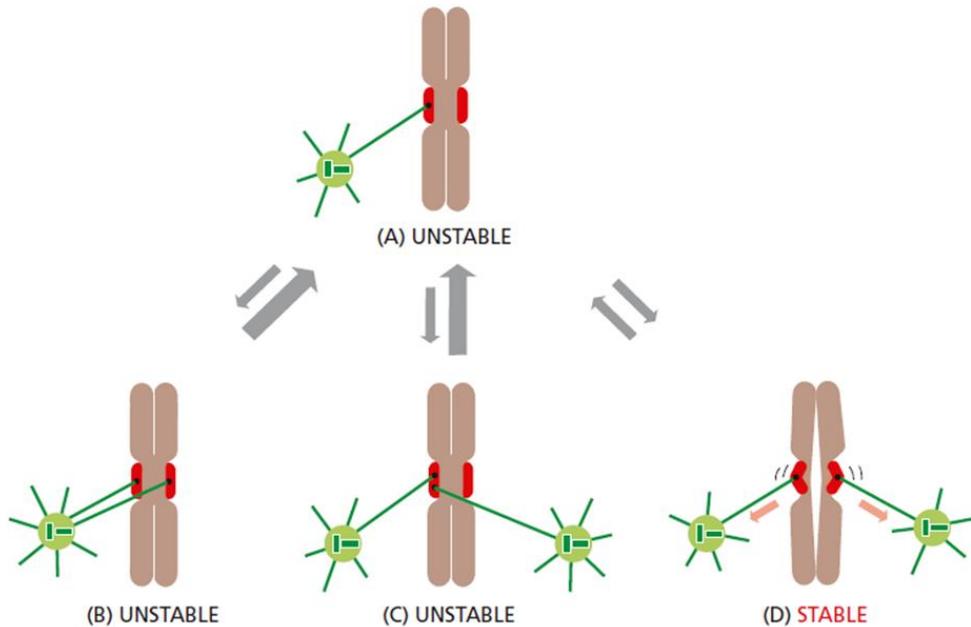
APARELHO MITÓTICO

- Os cromossomos têm um papel ativo na estabilização do processo;
- Criando instabilidade e desestabilização de microtúbulos nas regiões no seu entorno;
- Mas também podem estabilizar os microtúbulos por meio do cinetócoro;
- Quando microtúbulos de cada centrossomo estão ligados aos respectivos centrossomos.



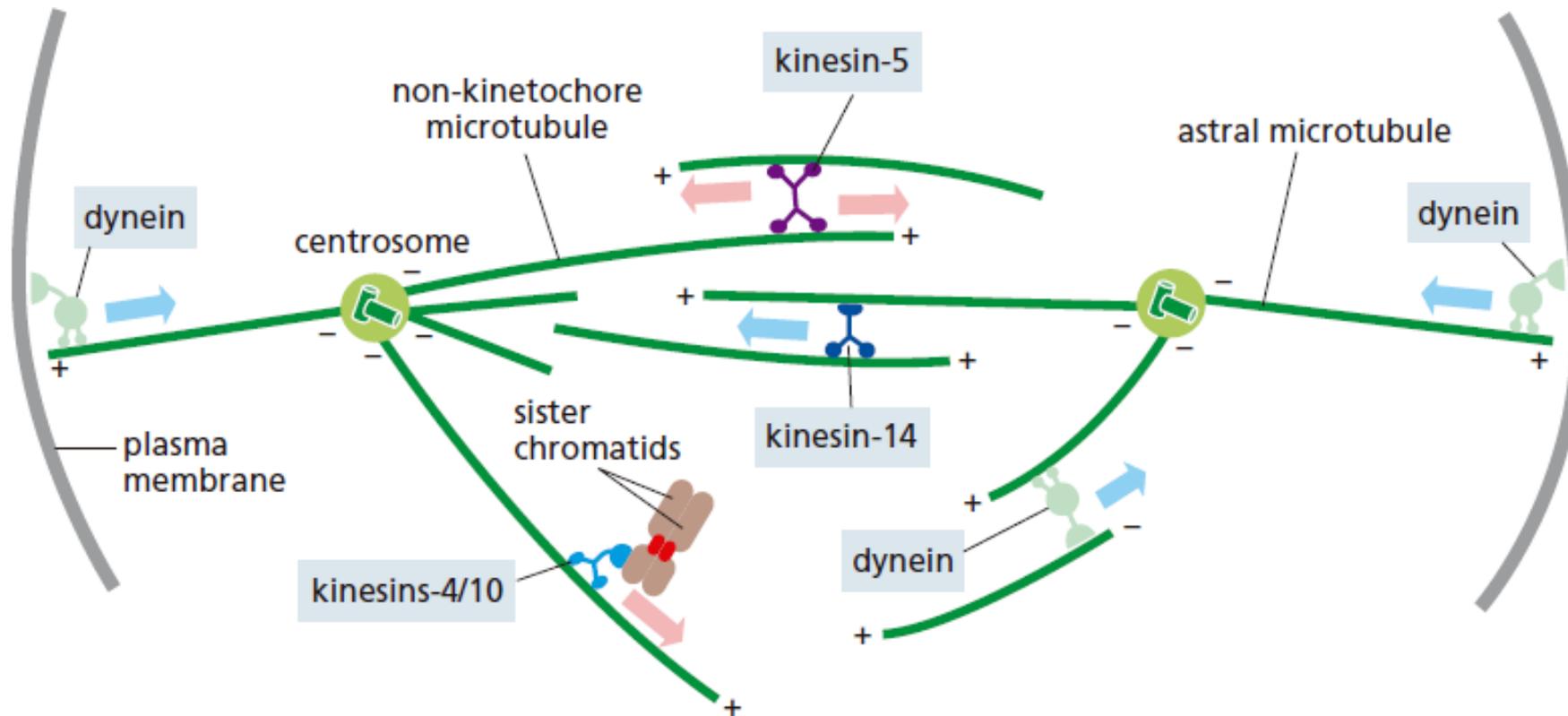
APARELHO MITÓTICO

- A estabilidade é dada por um equilíbrio de forças de tensão exercidas na região do centrossomos;



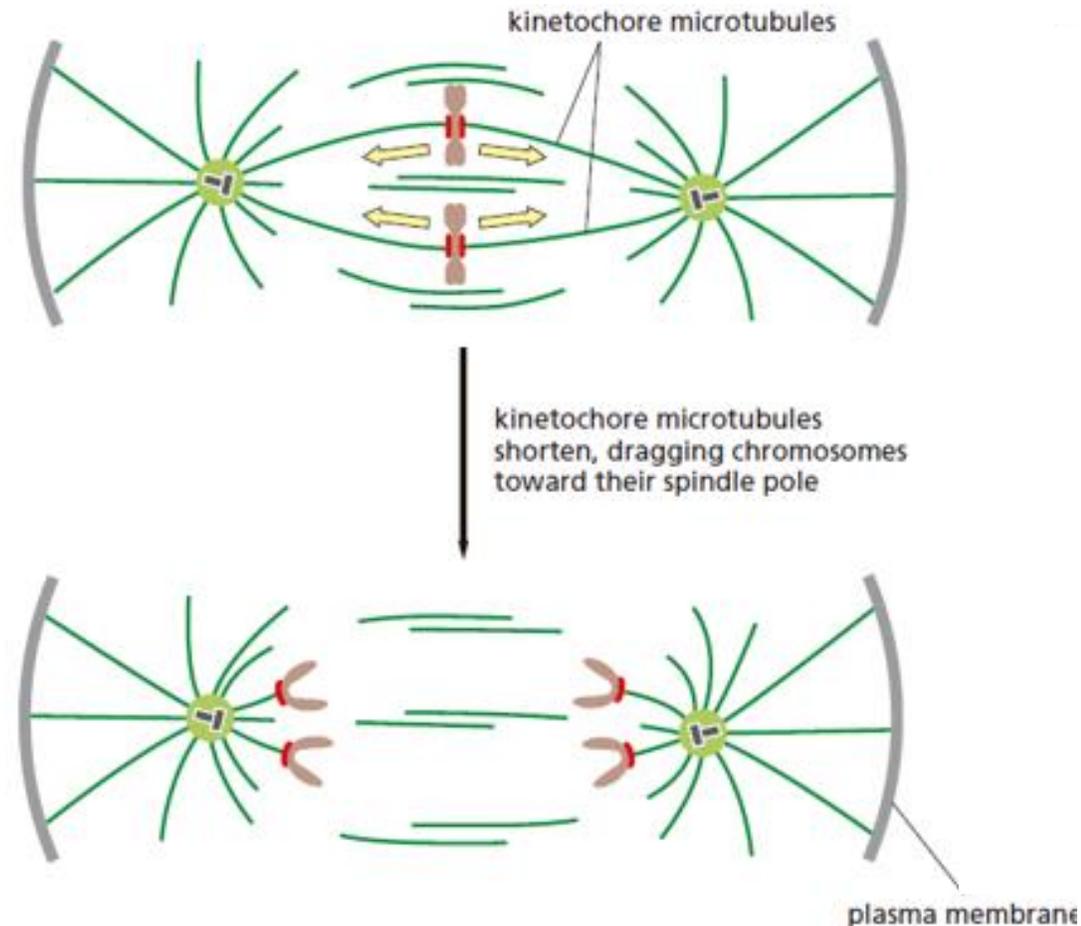
APARELHO MITÓTICO

- As força de tensão é gerada pelo balanço da atividade de proteínas motoras nos diferentes filamentos dos microtúbulos.



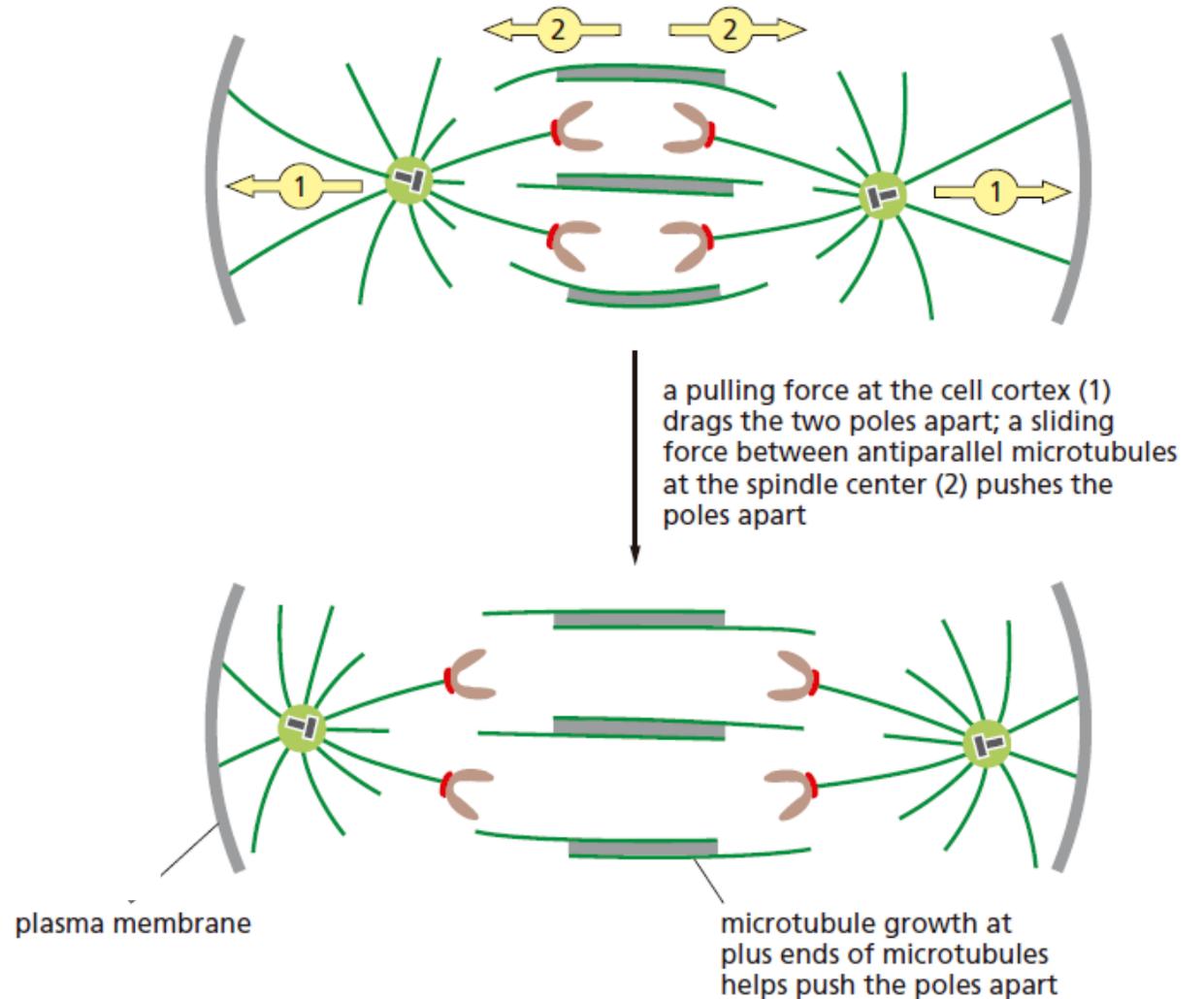
APARELHO MITÓTICO

- No primeiro processo, anáfase A;
- As cromátides são puxadas para lados opostos da células;
- Devido ao encurtamento dos microtúbulos do cinetócoro pela despolimerização na sua extremidade positiva.



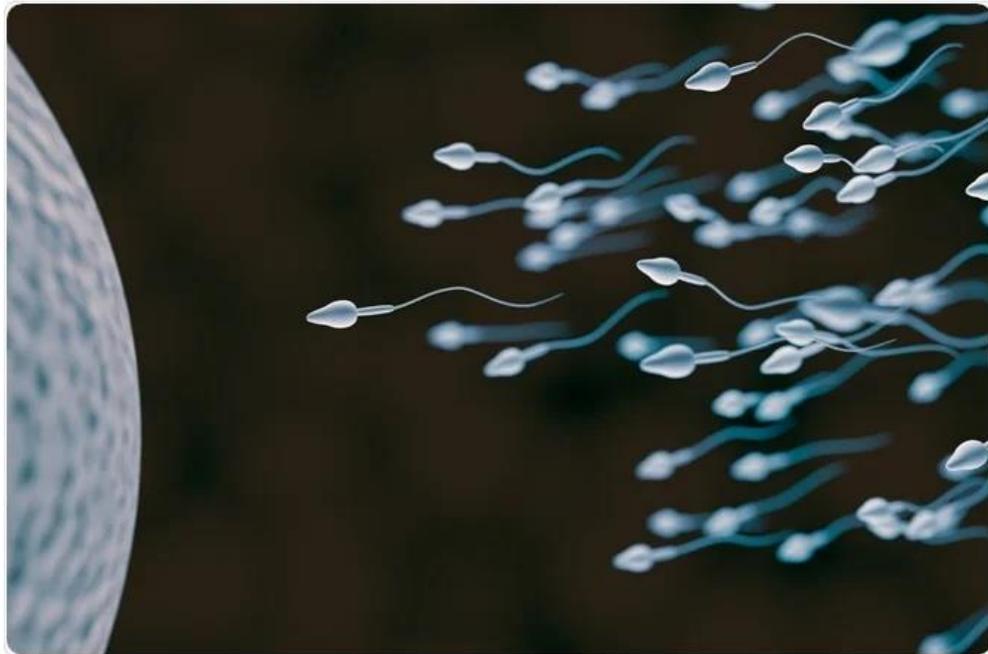
APARELHO MITÓTICO

- No segundo processo, anáfase B;
- Que começa após as cromátides irmãs se separaram a alguma distância;
- Ocorre a separação dos próprios polos do fuso;
- Que depende de diferentes proteínas motoras e de filamentos do microtúbulo.

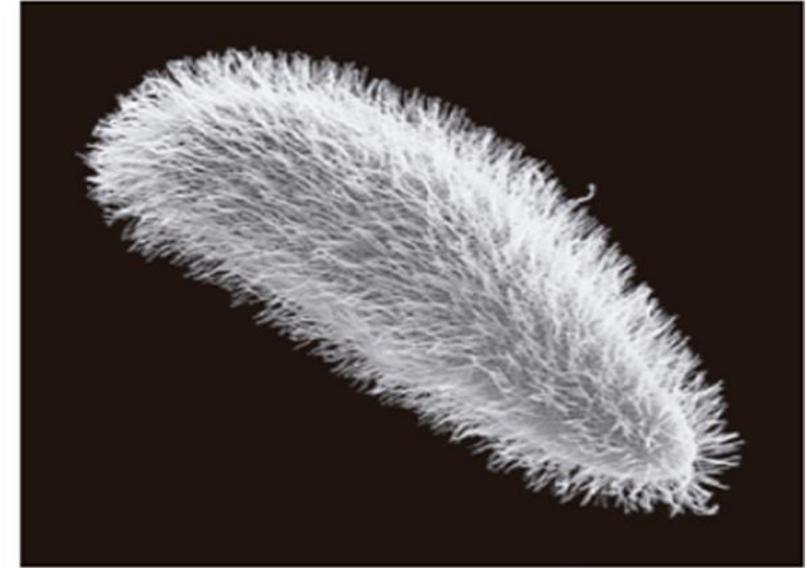


CÍLIOS e FLAGELOS

- Cílios e flagelos são estruturas formadas a partir de microtúbulos;
- Típicas de muitas células animais;
- São apêndices extracelulares que ajudam a célula a se mover em meio líquido (cílios e flagelo) ou movimentar líquido na superfície da célula (cílios);

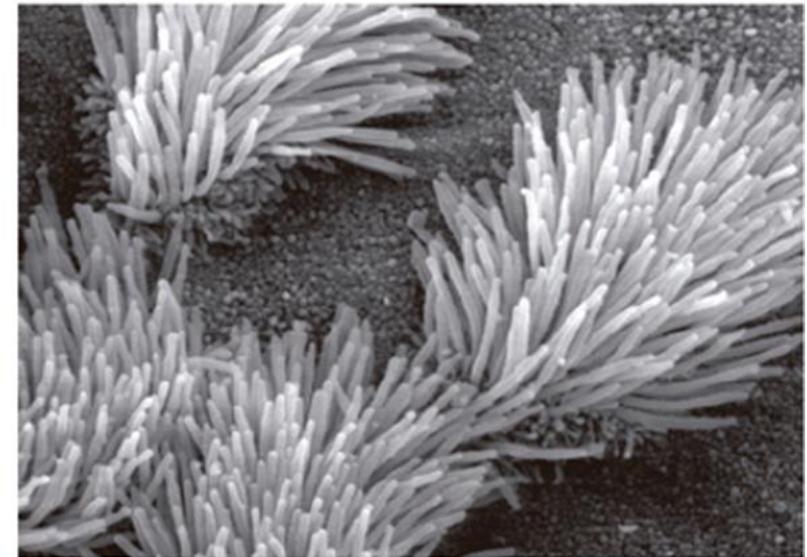


(A)



20 μm

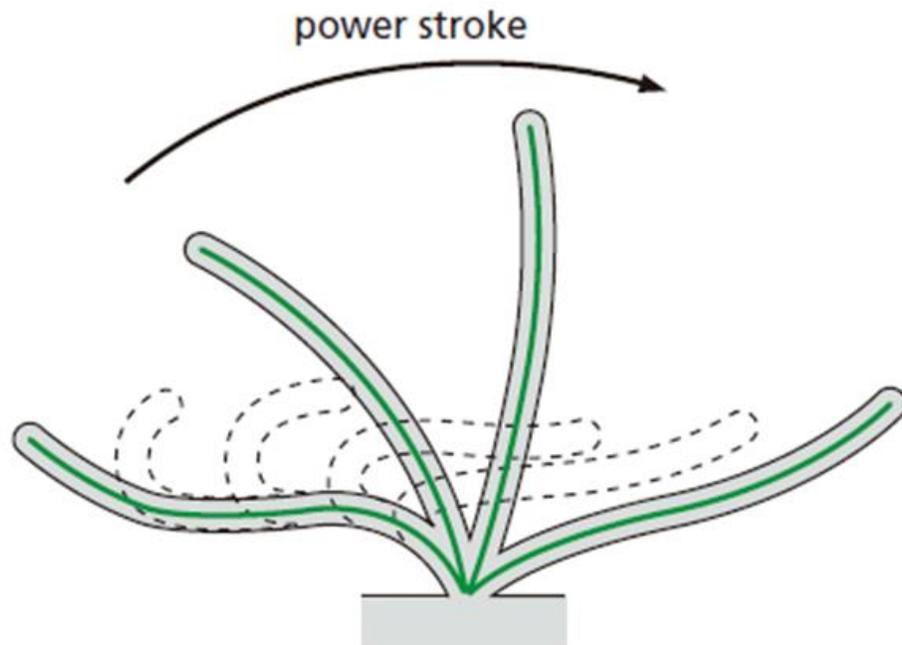
(B)



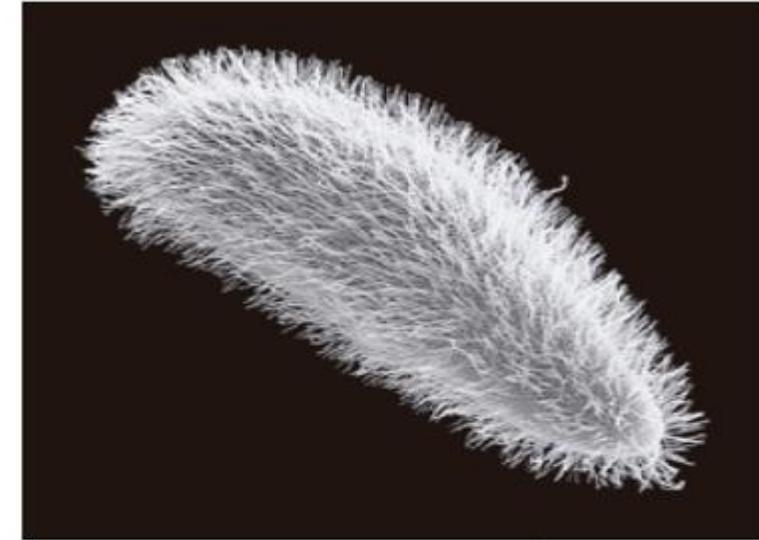
5 μm

CÍLIOS

- Os cílios são menores e encontrados em grande quantidade na superfície das células;
- Realizam um batimento coordenado de ida e volta, lembrando o movimento de um chicote;
- Que possibilita a célula se mover num ambiente líquido;
- Ou que um líquido se movimente sobre a célula.

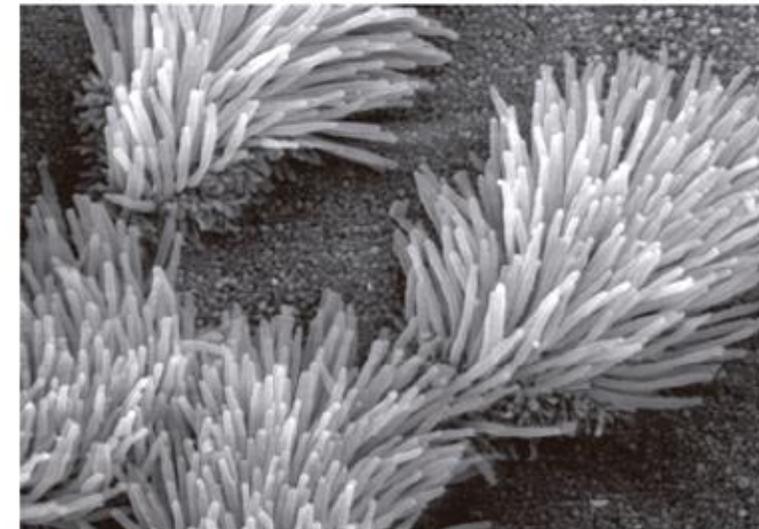


(A)



20 µm

(B)

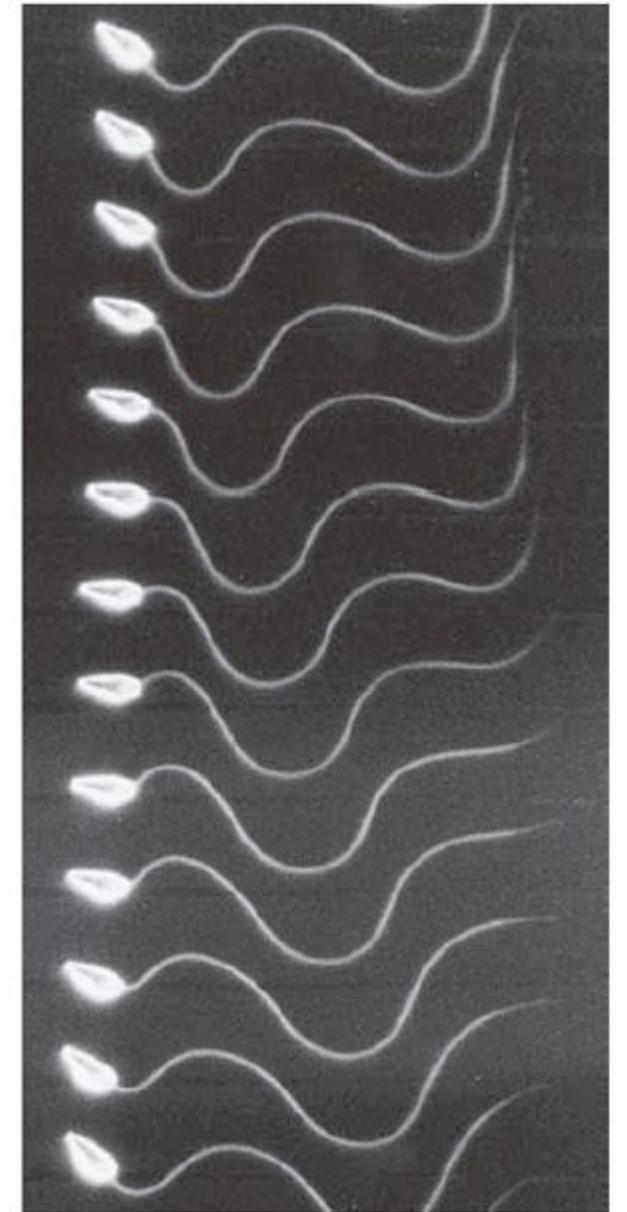


5 µm

FLAGELOS

- Os flagelos são maiores;
- Podendo ser um único, até uns poucos flagelos por célula;
- Possibilita a movimentação de células em líquido por batimento ondulatório;
- Os flagelos de bactérias são estruturas totalmente diferentes na sua composição.

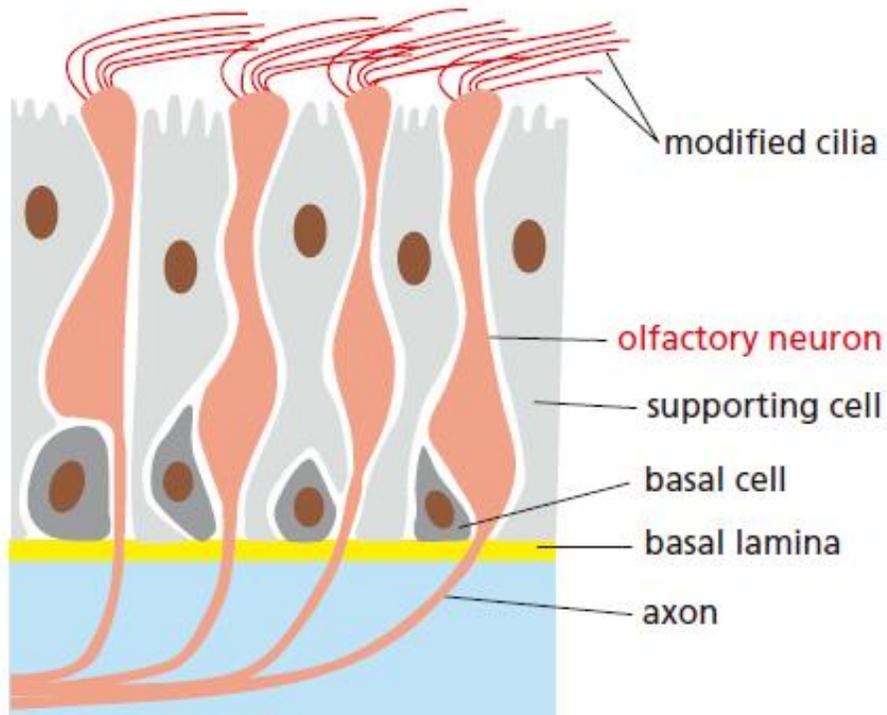
(C)



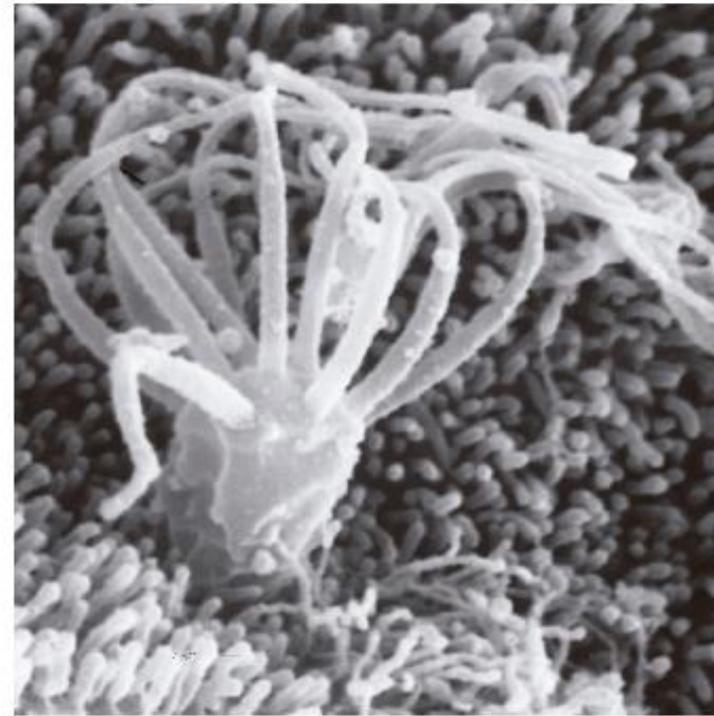
10 μm

CÍLIOS PRIMÁRIOS

- Existem ainda os cílios primários (não móveis) com função sensorial;
- Capazes de perceber sinais extracelulares de movimento, luz e odor;
- São projeções celulares onde se encontram receptores captadores de estímulos;
- Por exemplo os cílios olfativos da mucosa do epitélio nasal.



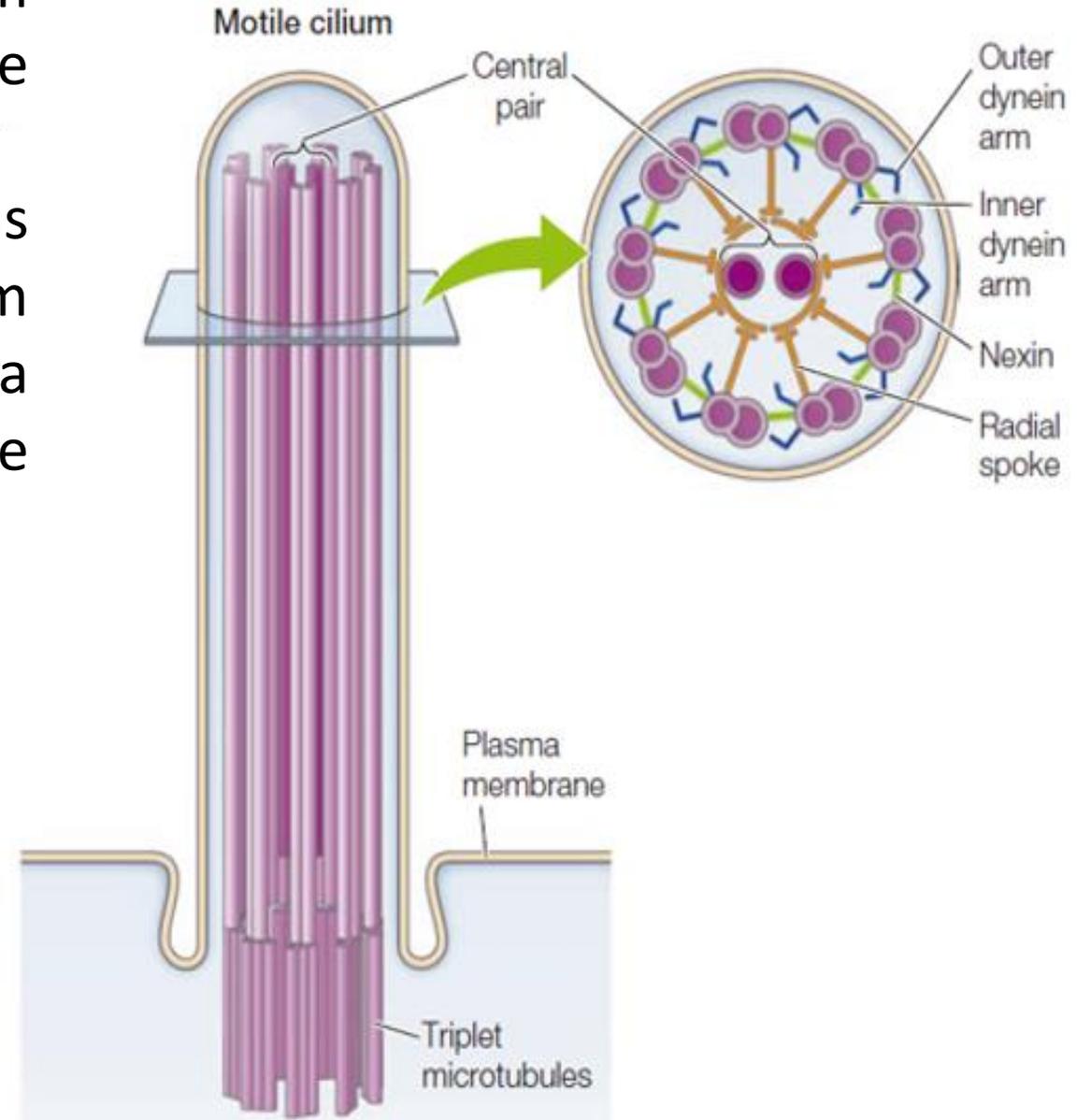
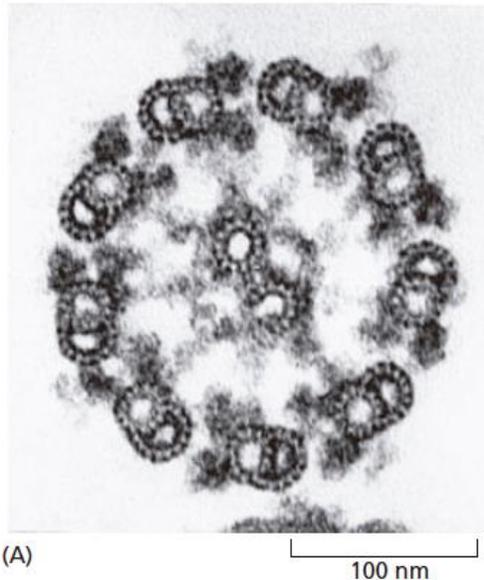
(A)



(B)

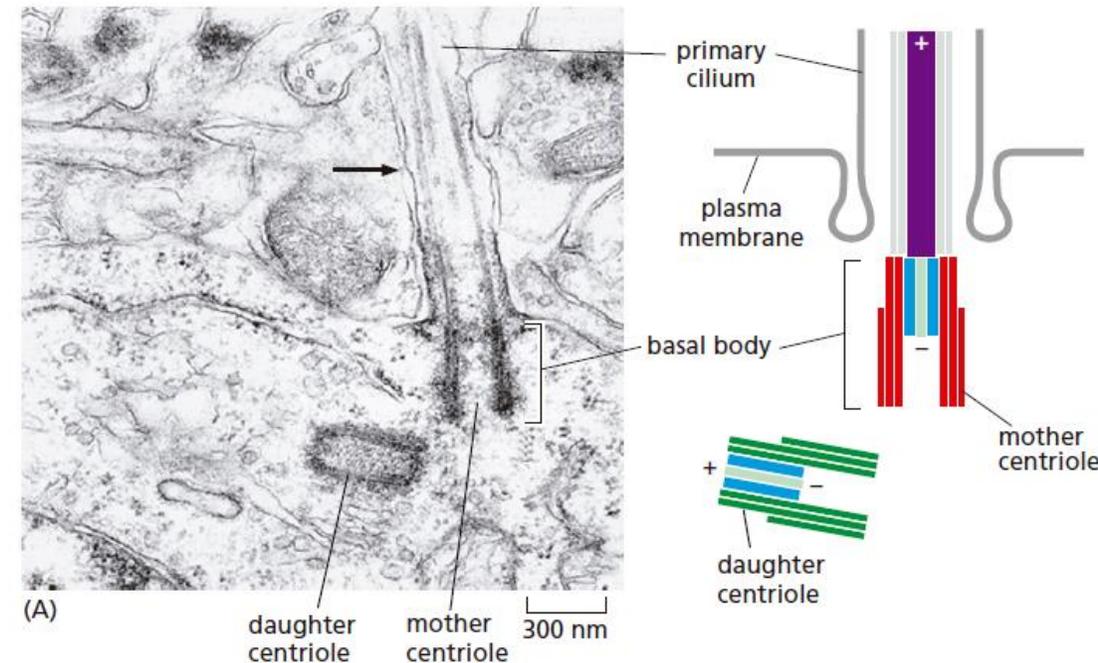
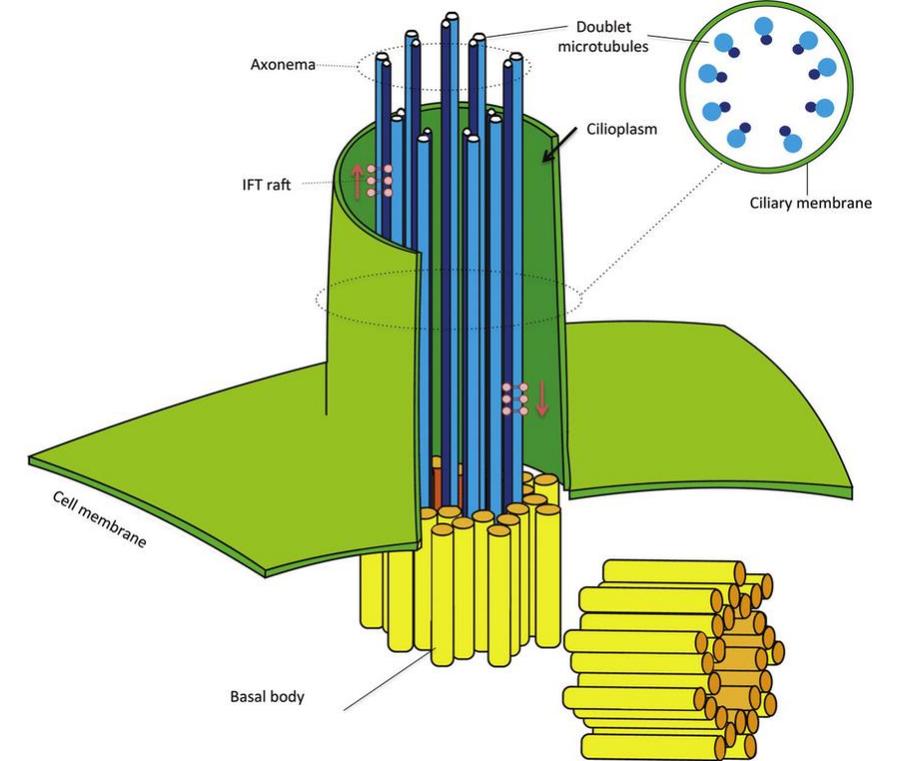
CÍLIOS e FLAGELOS

- Cílios e flagelos são formados a partir de um arranjo básico de microtúbulos, diferente de outras regiões da célula (9 + 2);
- Função dessas estruturas possível pelas proteínas acessórias; Algumas atuam interligando os microtúbulos para manutenção do arranjo de microtúbulos e outras geram a força que provoca a flexão.



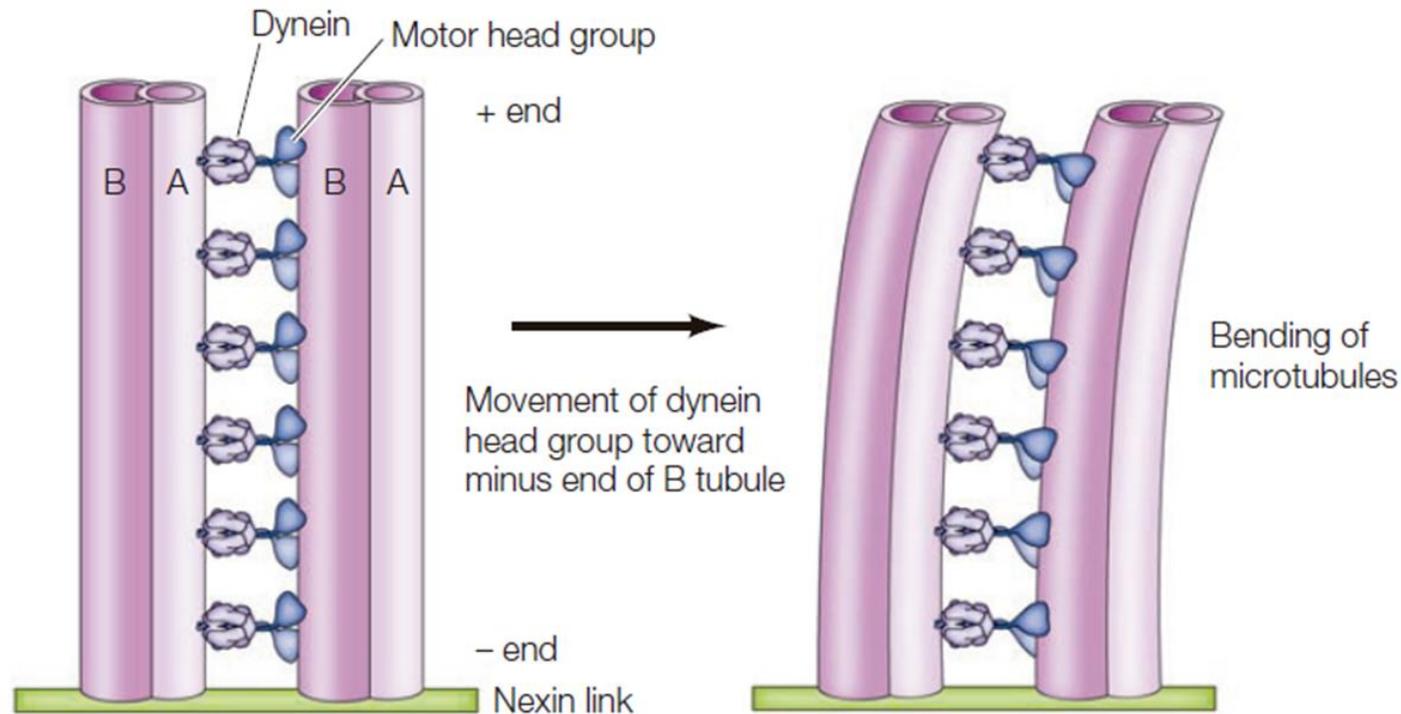
CÍLIOS e FLAGELOS

- A região central ao longo da extensão longitudinal dos cílios e flagelos é denominada axonema e constituída por um arranjo de microtúbulos diferente do encontrado na sua porção basal (corpo basal);
- O corpo basal tem um arranjo de microtúbulos de tripletes porque é formado por um centríolo;
- Então, importante função do centríolo é nuclear essas estruturas nas superfícies celulares.



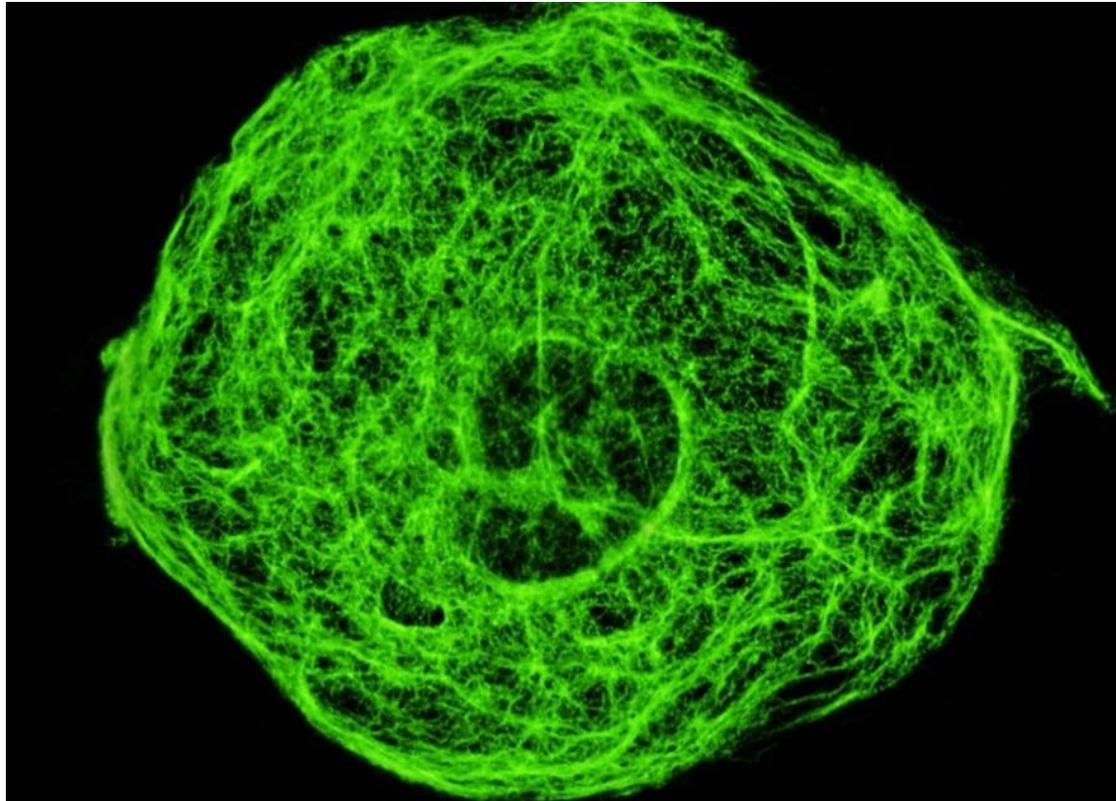
CÍLIOS e FLAGELOS

- A dineína ciliar (flagelar) é a principal responsável pelo movimento de flexão;
- A dineína está associada pela cabeça em um protofilamento e pela cauda em um protofilamento adjacente;
- Na presença de ATP as dineínas tentam deslizar os microtúbulos uns sobre os outros, mas proteínas estruturais impedem esse movimento e o resultado é uma torção.



FILAMENTOS INTERMEDIÁRIOS (FI)

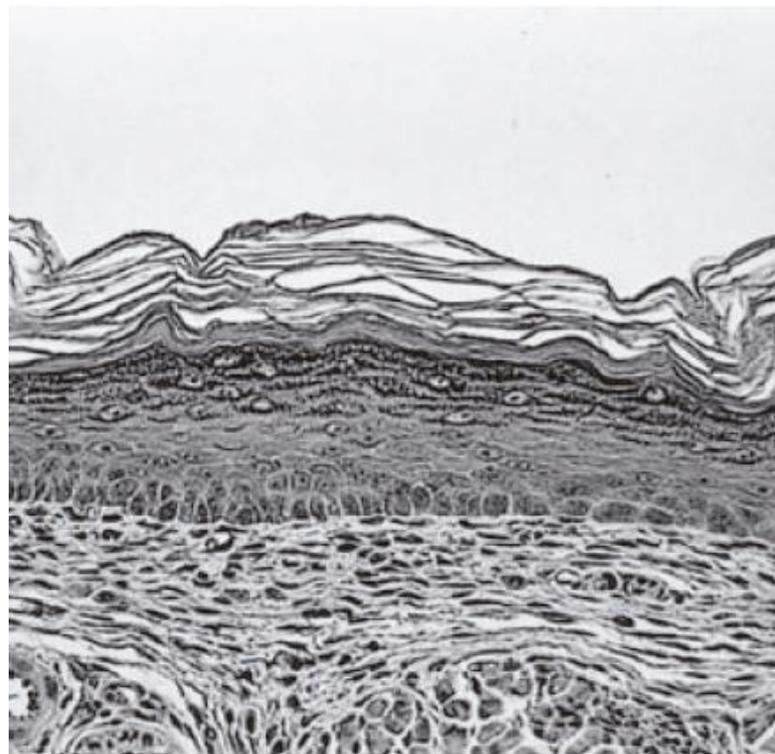
- A função principal dos FIs é conferir resistência mecânica as força de tensão, principalmente de distensão;
- Por isso são importantes em células e tecidos sujeitos a tensão como céls epiteliais da pele e musculares;



- Evidente nas situações em que essas fibras se estendem por grandes regiões, atravessando o citoplasma de um lado para o outro.

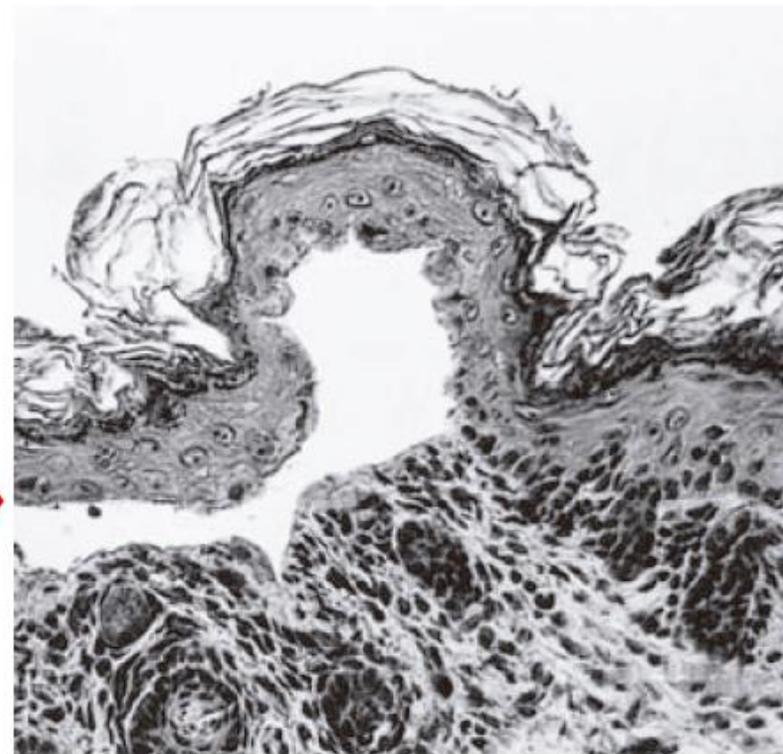
FILAMENTOS INTERMEDIÁRIOS (FI)

Epidermólise bolhosa simples

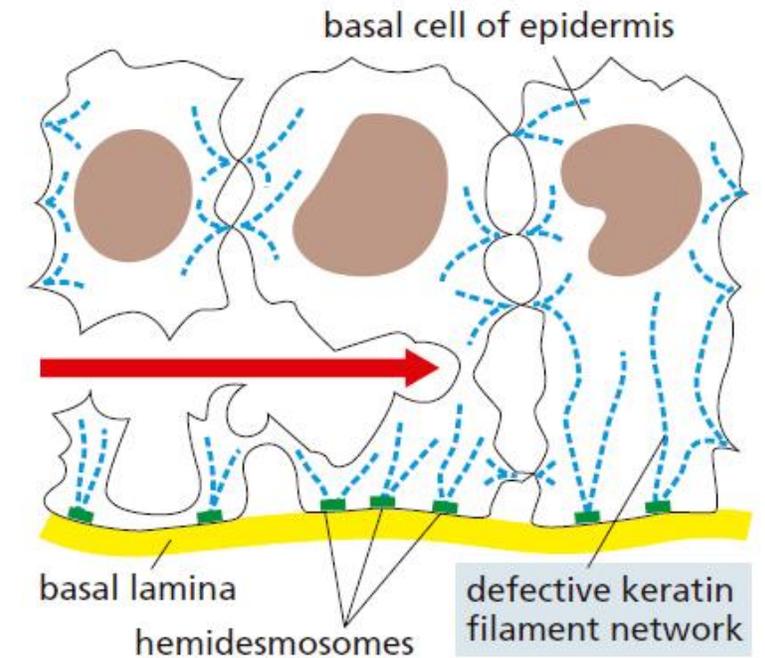


(A)

40 μm



(B)

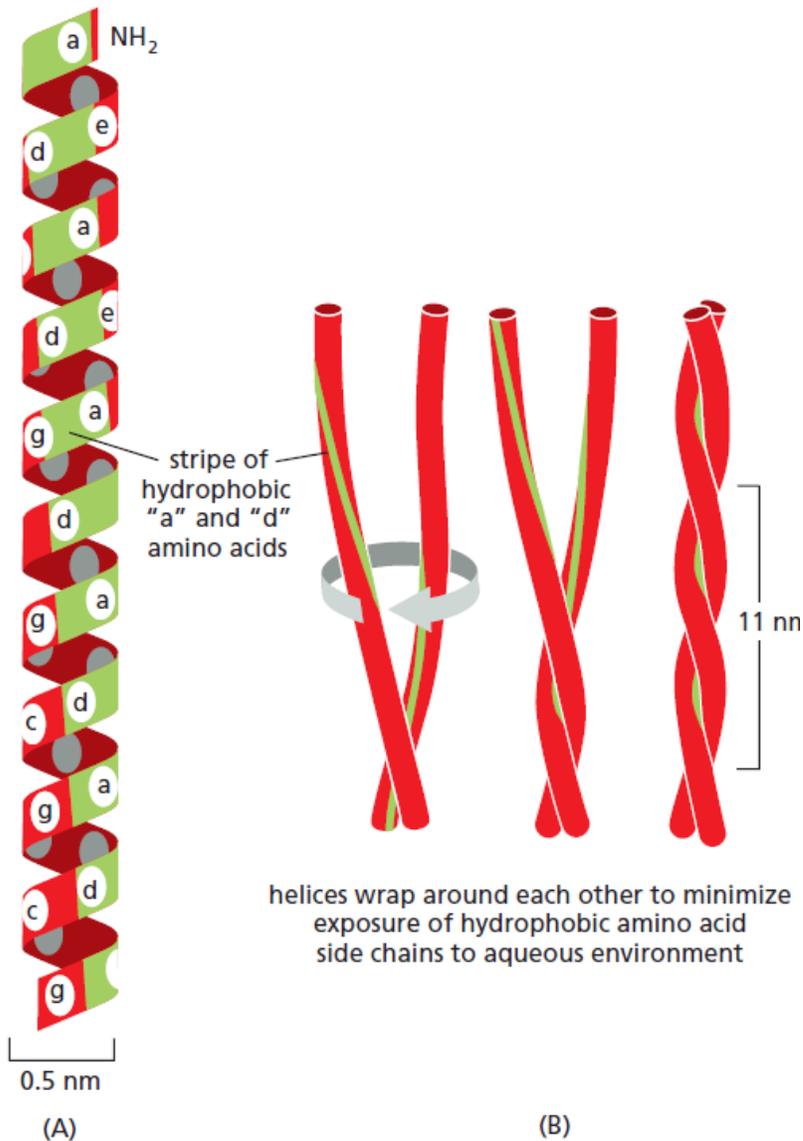


(C)

FILAMENTOS INTERMEDIÁRIOS (FI)

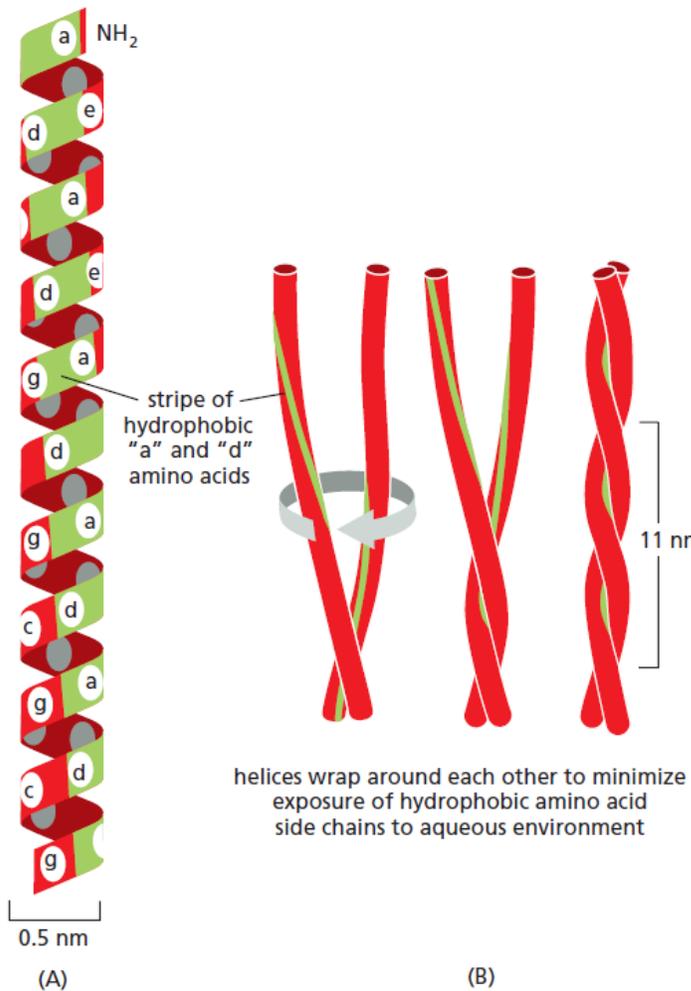
- Os filamentos intermediários têm características de outros filamentos do citoesqueleto mas também características distintas;
- São formados pela associação não covalente de subunidades;
- Mas as subunidades neste caso são proteínas fibrosas (extensas);
- Diferentes proteínas fibrosas podem ser monômero dos filamentos intermediários;
- Embora todas elas atuem para resistência mecânica das células.

FILAMENTOS INTERMEDIÁRIOS (FI)



- Como proteínas fibrosas, os monômeros apresentam:
- Longa região central (haste) em α -hélice;
- E regiões terminais não estruturadas;
- Os monômeros interagem formando estruturas cabeça-cauda;
- A região de α -hélice contém repetições de heptapeptídeos com aminoácidos hidrofóbicos em posições específicas;
- Que promovem a interação e torção da α -hélice entre duas moléculas (aspecto de corda enrolada).

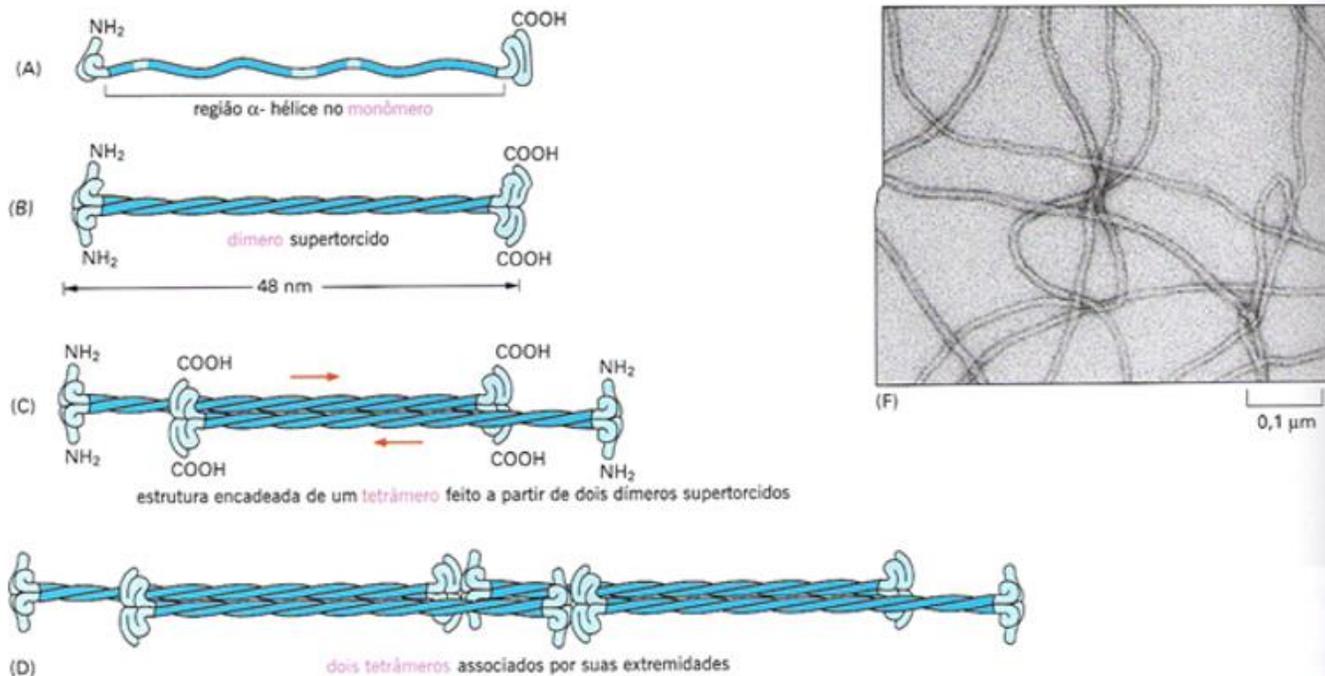
FILAMENTOS INTERMEDIÁRIOS (FI)



- A haste é conservada entre diferentes proteínas de FI tanto no tamanho quanto nas sequências;
- Mas divergem nas extremidades que ficam expostas e interagem com proteínas específicas do citoplasma;
- Os FI citoplasmáticos não são universais, não existem em levedura, plantas, e mesmo em todos os animais (não encontrados em animais com exoesqueleto rígido);
- Tb não estão presentes em todas as células de uma espécie que apresenta FI;
- Os FI nucleares são bem mais prevalentes, mas não encontrado em unicelulares.

FILAMENTOS INTERMEDIÁRIOS (FI)

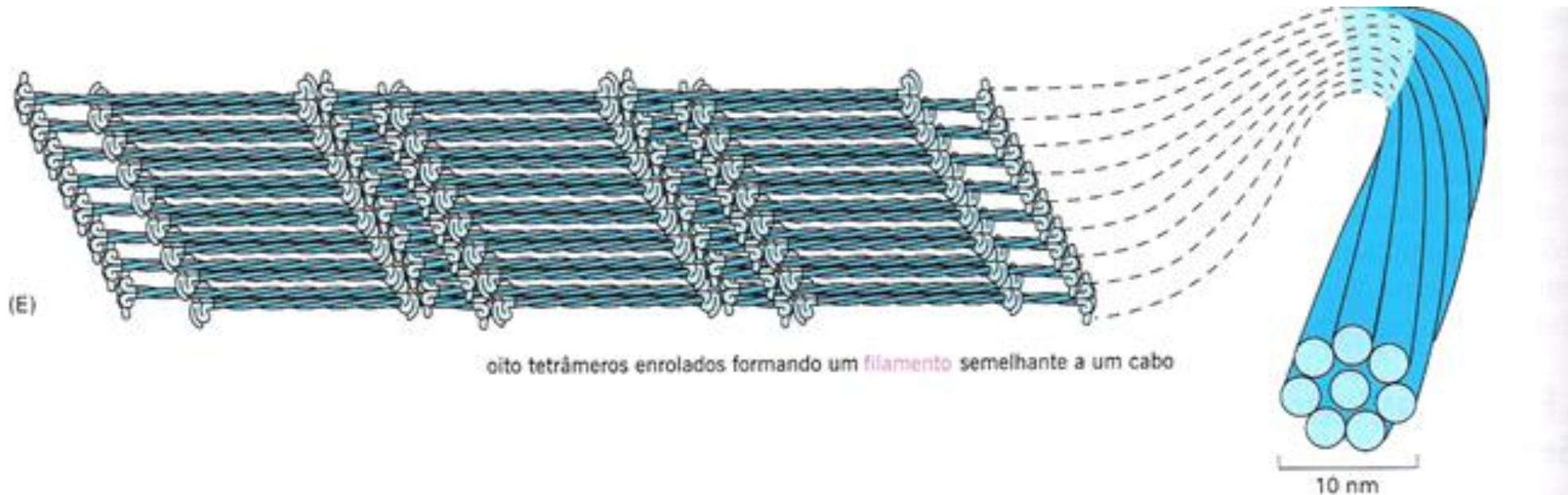
- Os dímeros são formados por interações cabeça-cauda;
- Podem ocorrer entre proteínas diferentes;
- Dímeros interagem entre si para formar um tetrâmero;
- de forma antiparalela e defasada;



- O tetrâmero corresponde a espessura do filamento intermediário;
- Entre 10 a 12 nm;
- O encadeamento entre eles forma protofilamentos;

FILAMENTOS INTERMEDIÁRIOS (FI)

- Tetrâmeros interagem entre si pelas extremidades ou tb lateralmente;
- Formando estruturas maiores, lembrando um cabo;
- Que responde pelas propriedades de resistência do filamento;

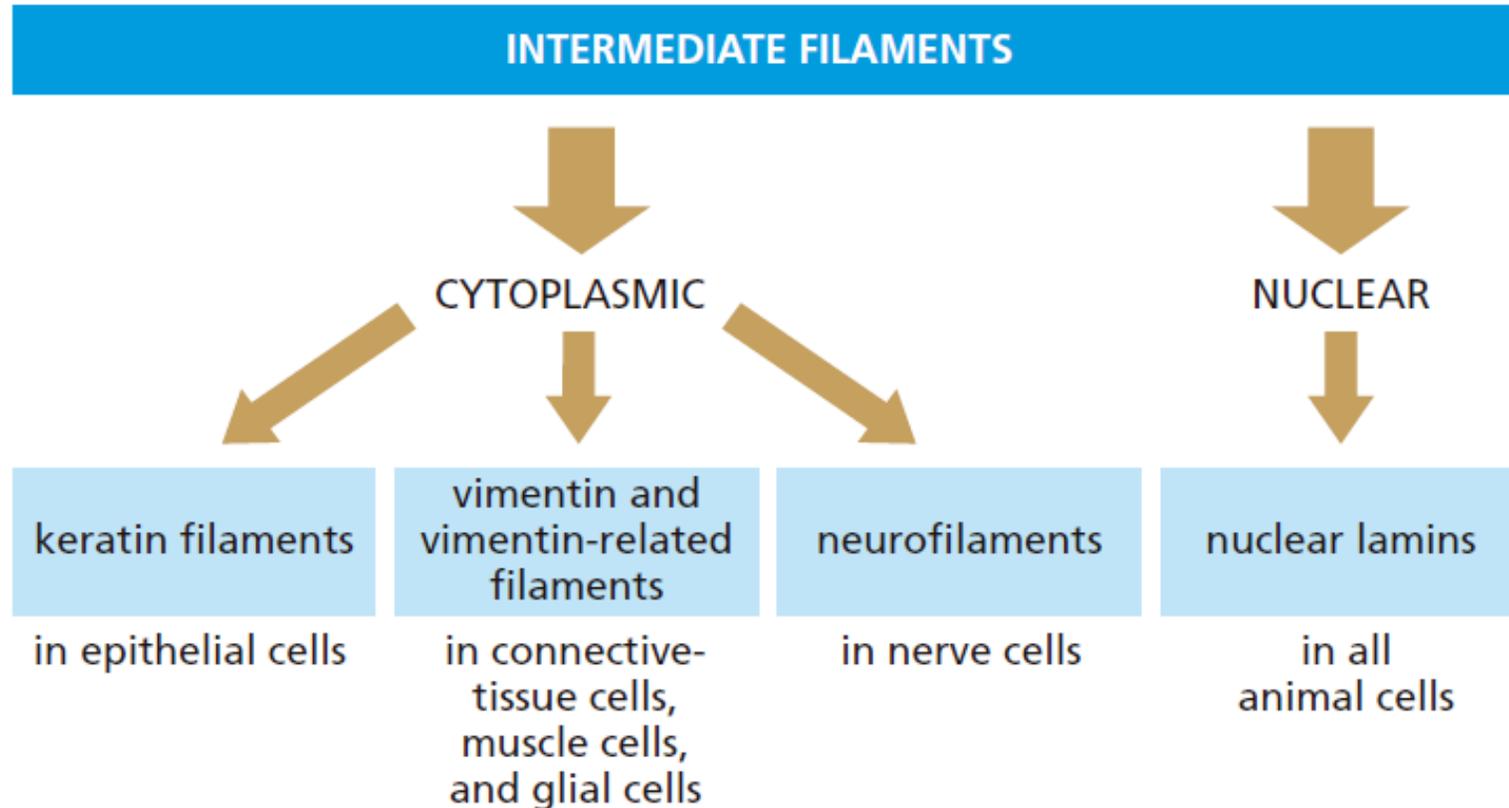


FILAMENTOS INTERMEDIÁRIOS (FI)

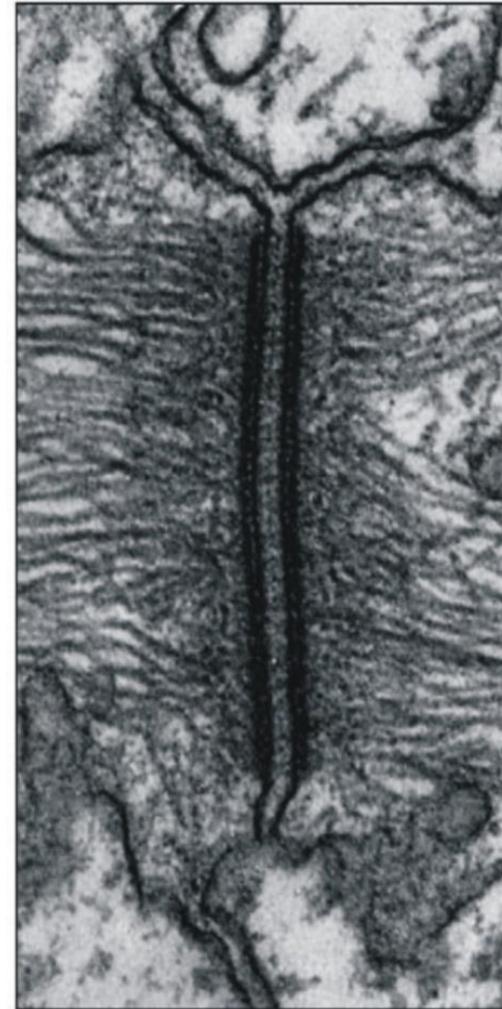
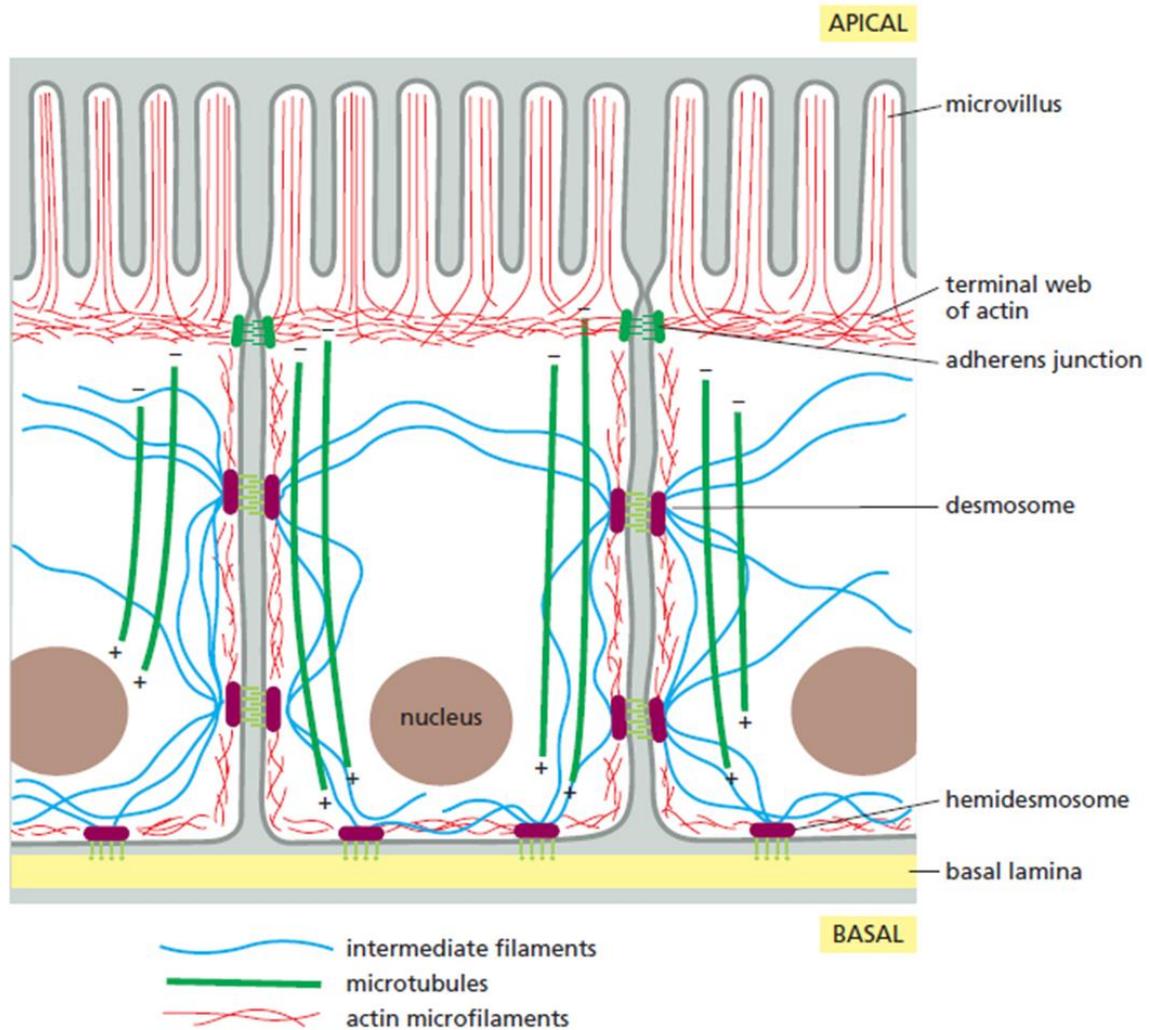
- Diferentes dos outros dois tipos de filamentos;
- FI são mais resistentes e menos suscetíveis a montagem e desmontagem;
- São menos solúveis, sendo os dímeros e tetrâmeros as unidades solúveis;
- O FI não é polarizado, pela formação do tetrâmero com dímeros antiparalelos;
- Não interagem com ATP ou GTP.

FILAMENTOS INTERMEDIÁRIOS (FI)

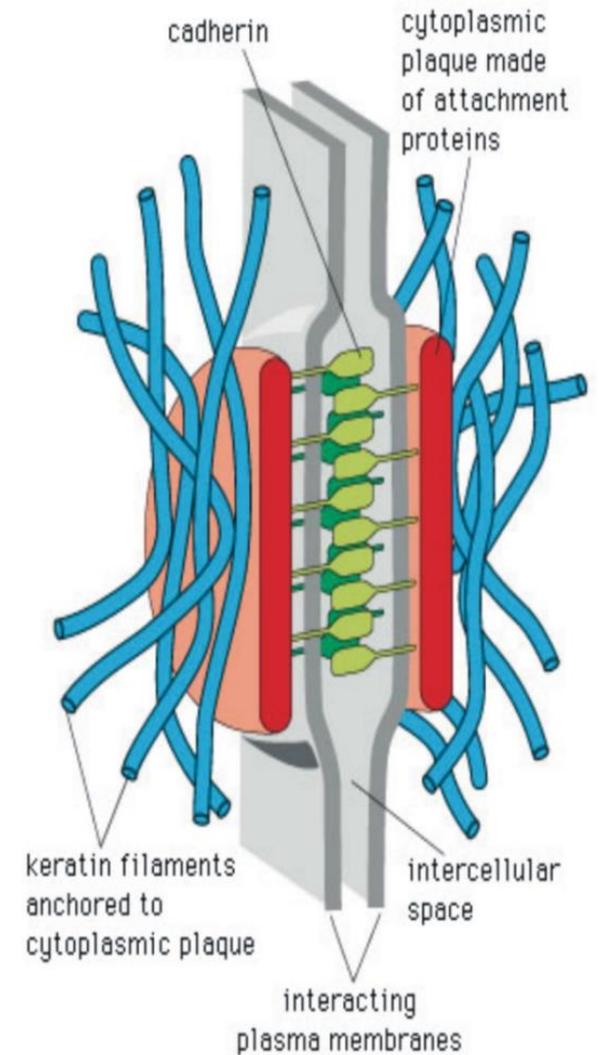
- Existem cerca de 70 proteínas FI em humanos, agrupadas em famílias de acordo com homologia de sequências;
- A expressão de algumas proteínas FI são típicas de alguns tipos celulares.



FILAMENTOS INTERMEDIÁRIOS (FI)

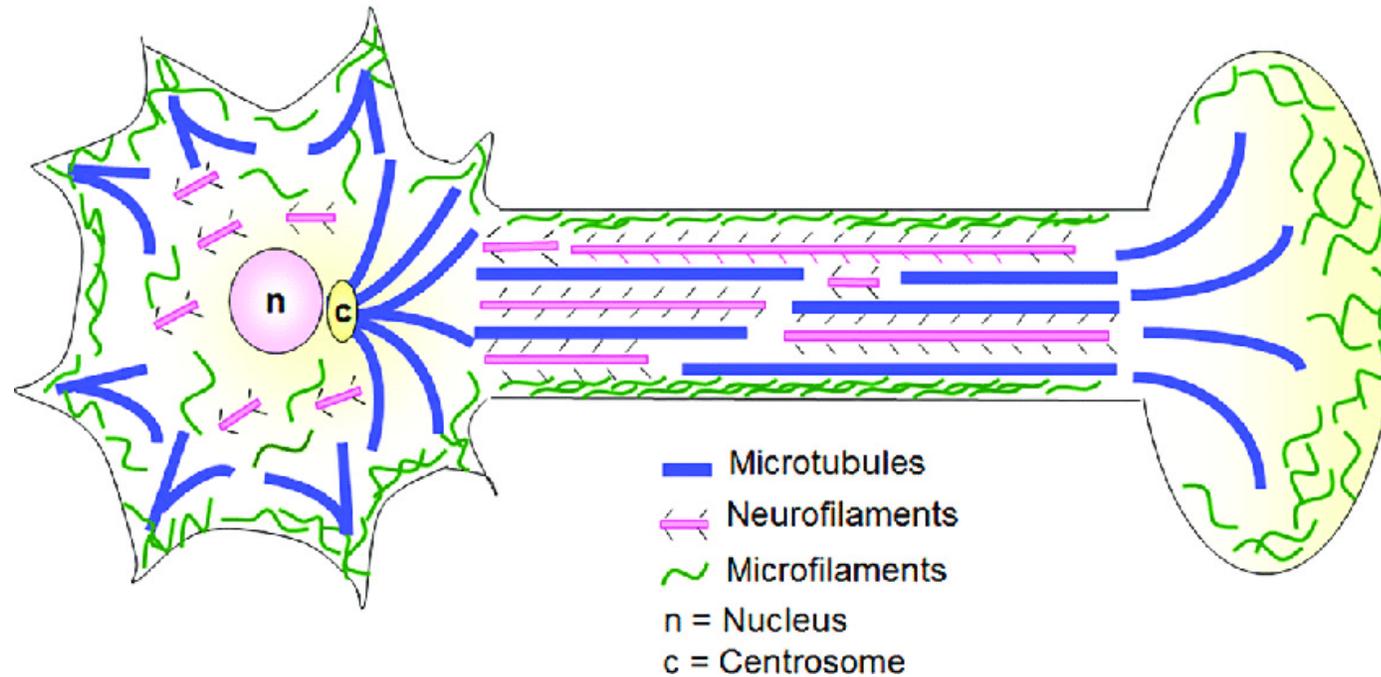
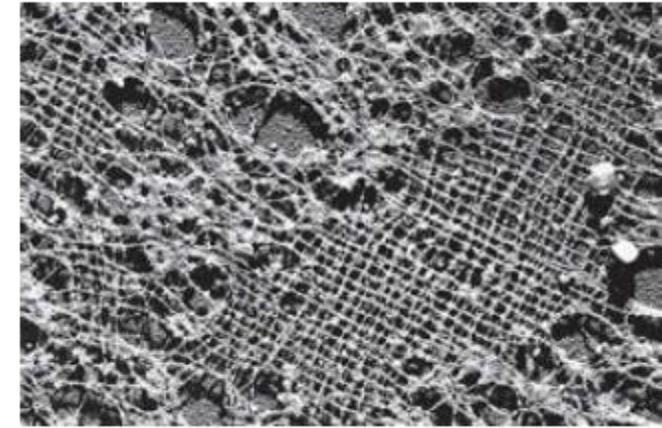
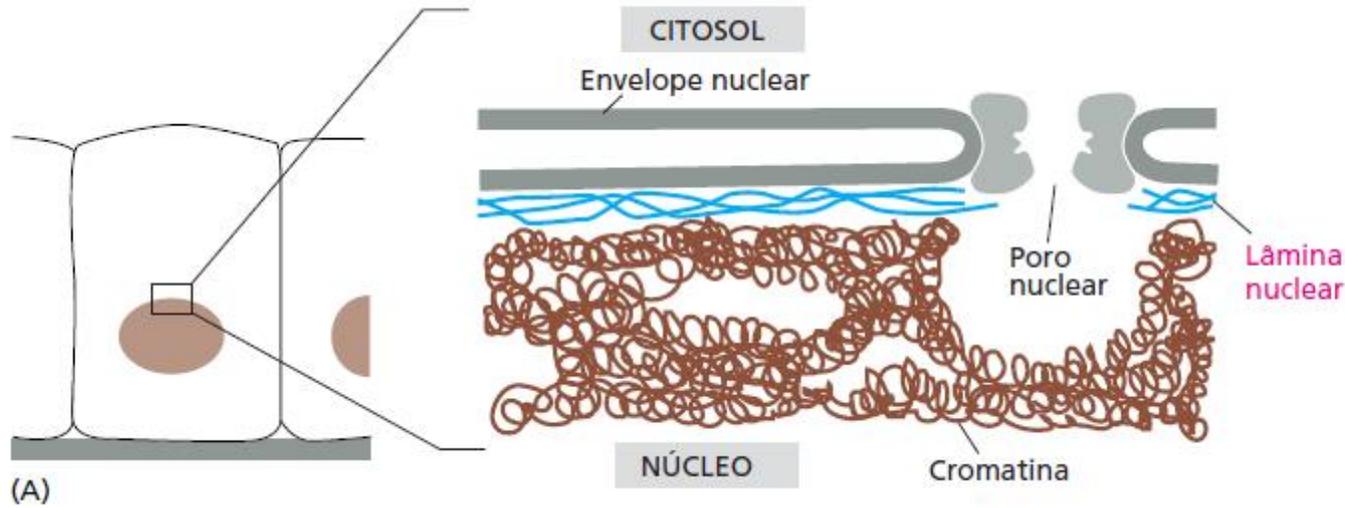


(A)



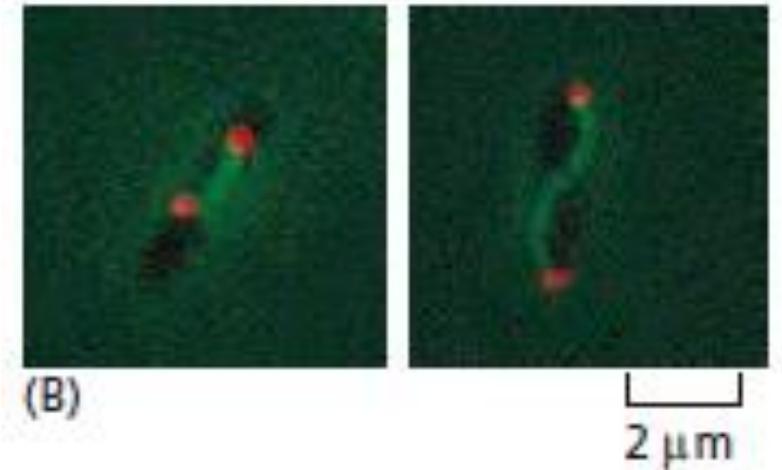
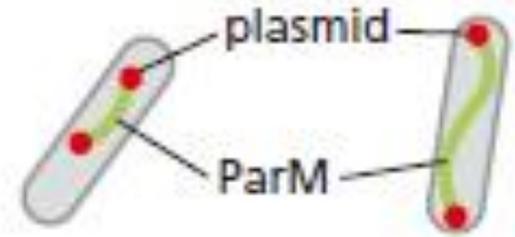
(B)

FILAMENTOS INTERMEDIÁRIOS (FI)



CITOESQUELETO e PROCARIOTOS

- A ausência de citoesqueleto em bactérias era uma das diferenças apontadas entre eucariotos e bactérias;
- Mas proteínas com funções equivalentes tem sido descobertas nas bactérias;
- Sequências tb estão relacionadas com as proteínas eucariotas;
- Além de outras propriedades, como polimerização não covalente, montagem e desmontagem de subunidades.

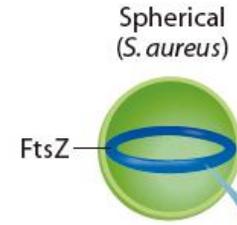
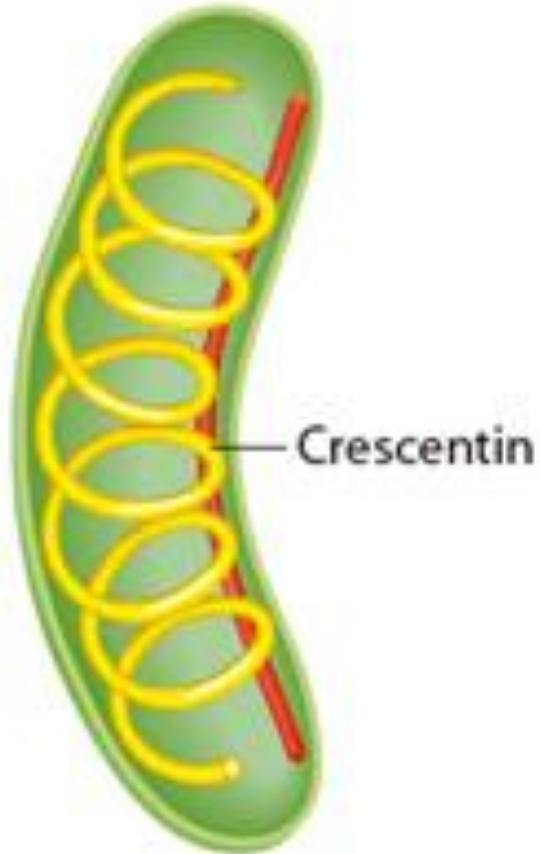
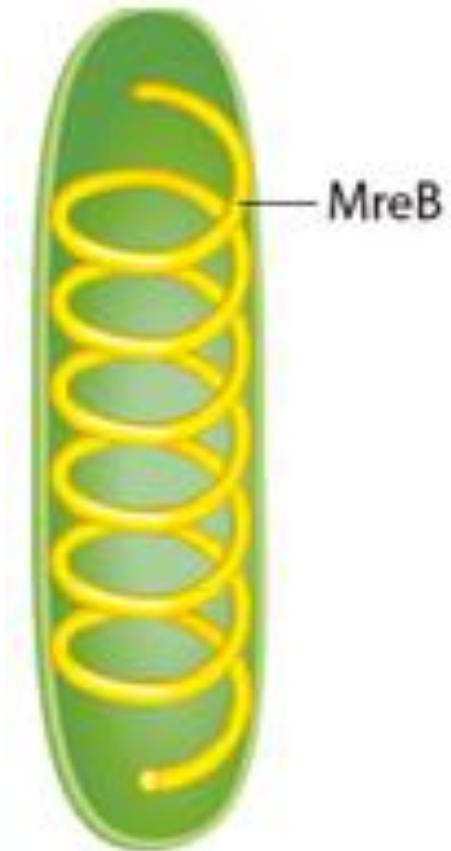


ParM “tipo microtúbulos”
(mas sequência com maior homologia com actina)
Função na segregação plasmidial

CITOESQUELETO e PROCARIOTOS

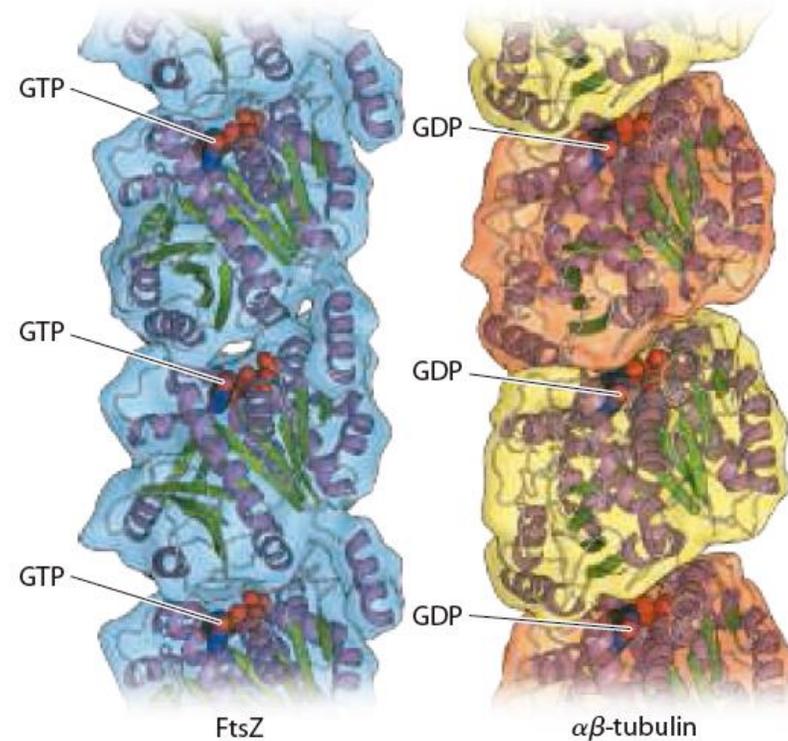
MreB “tipo actina”
formato celular

Crescentin “tipo F1”
formato celular



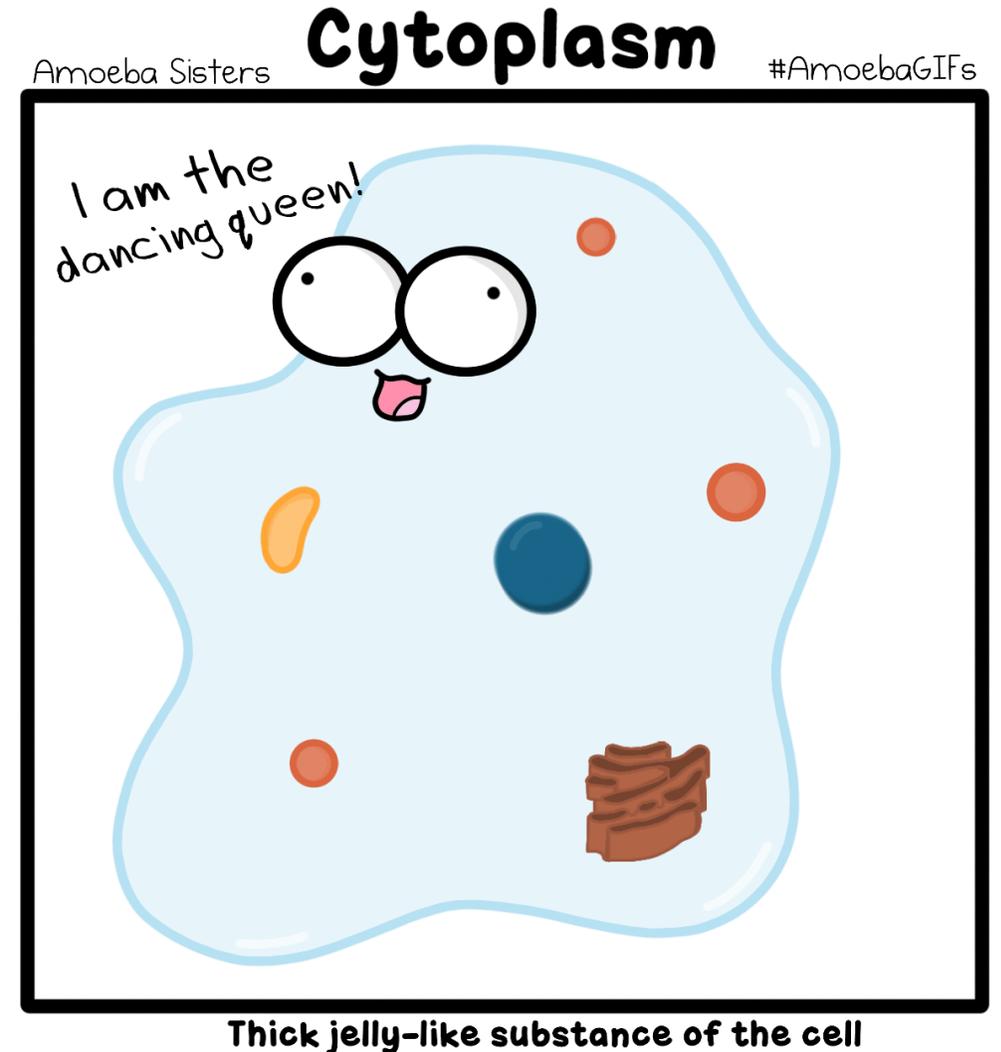
proteína FtsZ, “tipo tubulina”
Determina o local da divisão
celular bacteriana

(a) Prokaryotic
cytoskeletal
proteins



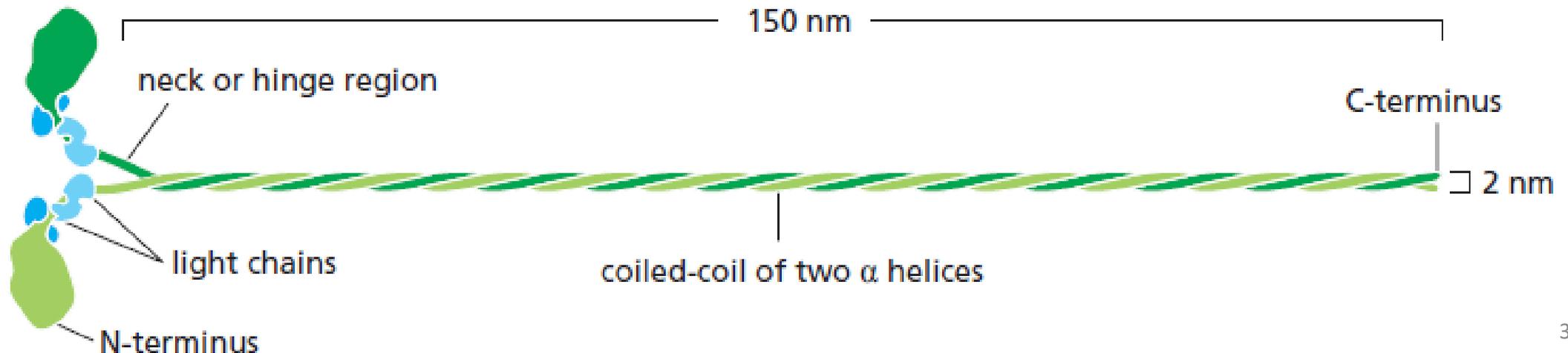
MOVIMENTO CELULAR

- As combinações formadas por actina-miosina desempenham funções importantes em todas as células eucariotas;
- Por serem estruturas contráteis capazes de realizar diferentes movimentos celulares;
- Como na migração celular e na contração muscular.



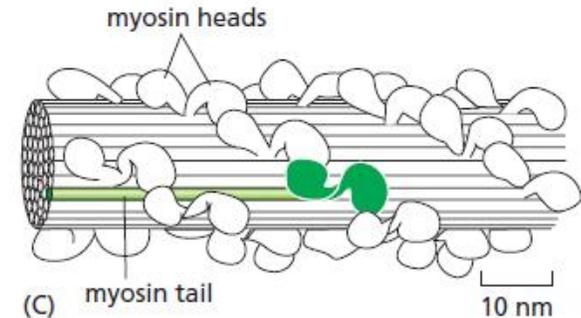
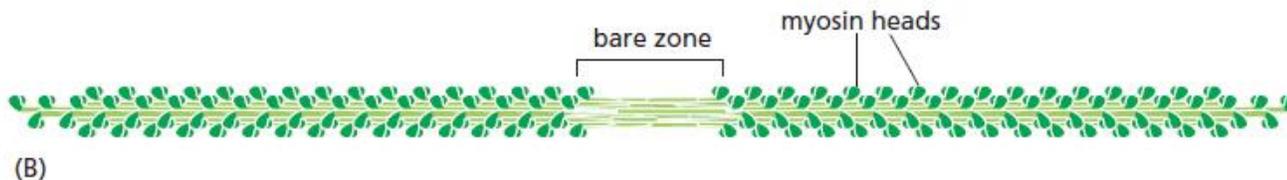
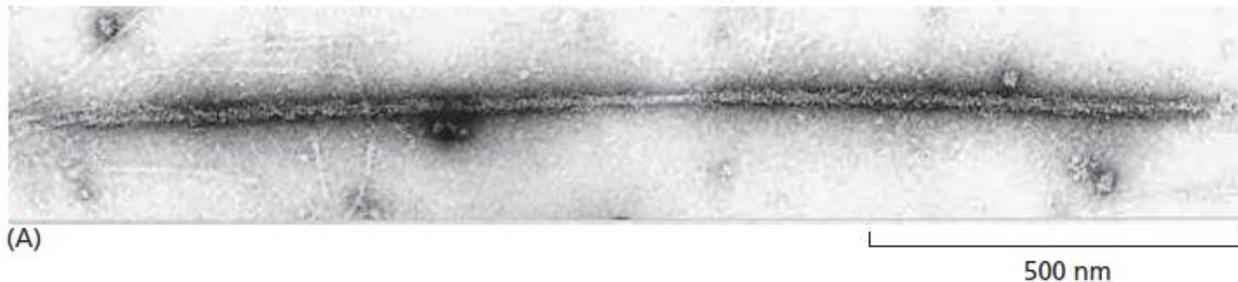
CONTRAÇÃO MUSCULAR

- A miosina da fibra muscular é a miosina II;
- Formada por duas cadeias pesadas iguais e dois pares de cadeias leves;
- A cadeia pesada tem uma região N-terminal globular (cabeça) e uma longa região estendida em alfa hélice (cauda);
- As duas caudas de cada molécula se entrelaçam em espiral e ficam torcidas uma sobre a outra;
- As cadeias leves se ligam na região globular de cada uma das cadeias pesadas.



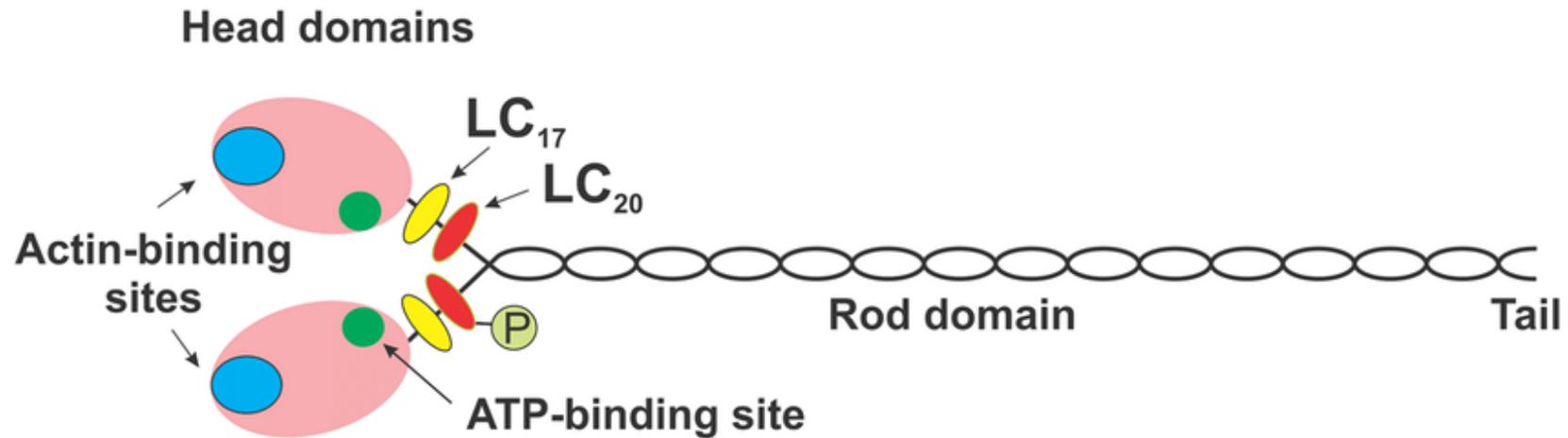
CONTRAÇÃO MUSCULAR

- As caudas torcidas de um dímero interagem com as de outros dímeros;
- A junção de vários dímeros geram um feixe de fibras paralelas;
- No feixe as moléculas se dispõem em dois conjuntos simétricos;
- Com as caudas interagindo em uma região central e as cabeças apontando para lados opostos;
- Como se fosse uma flecha com duas setas.



CONTRAÇÃO MUSCULAR

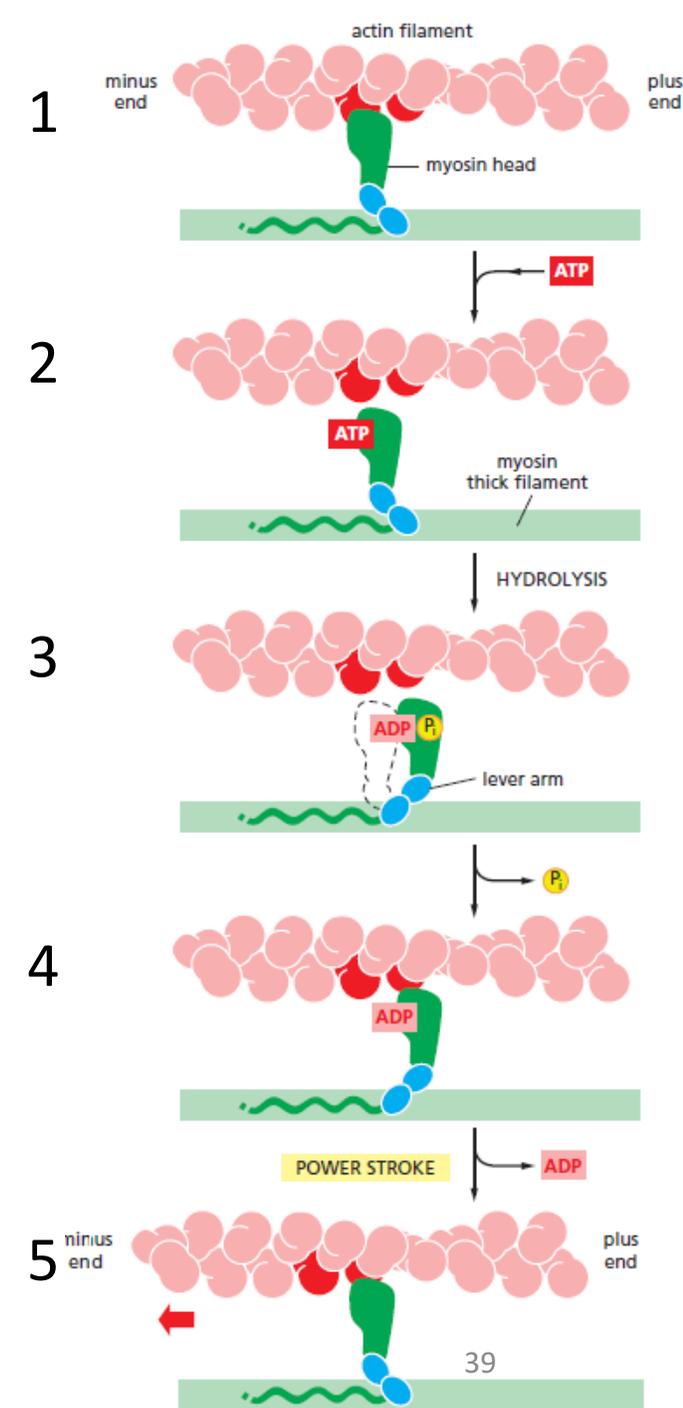
- A miosina II é uma proteína motora;
- O ATP se liga na região globular da miosina;



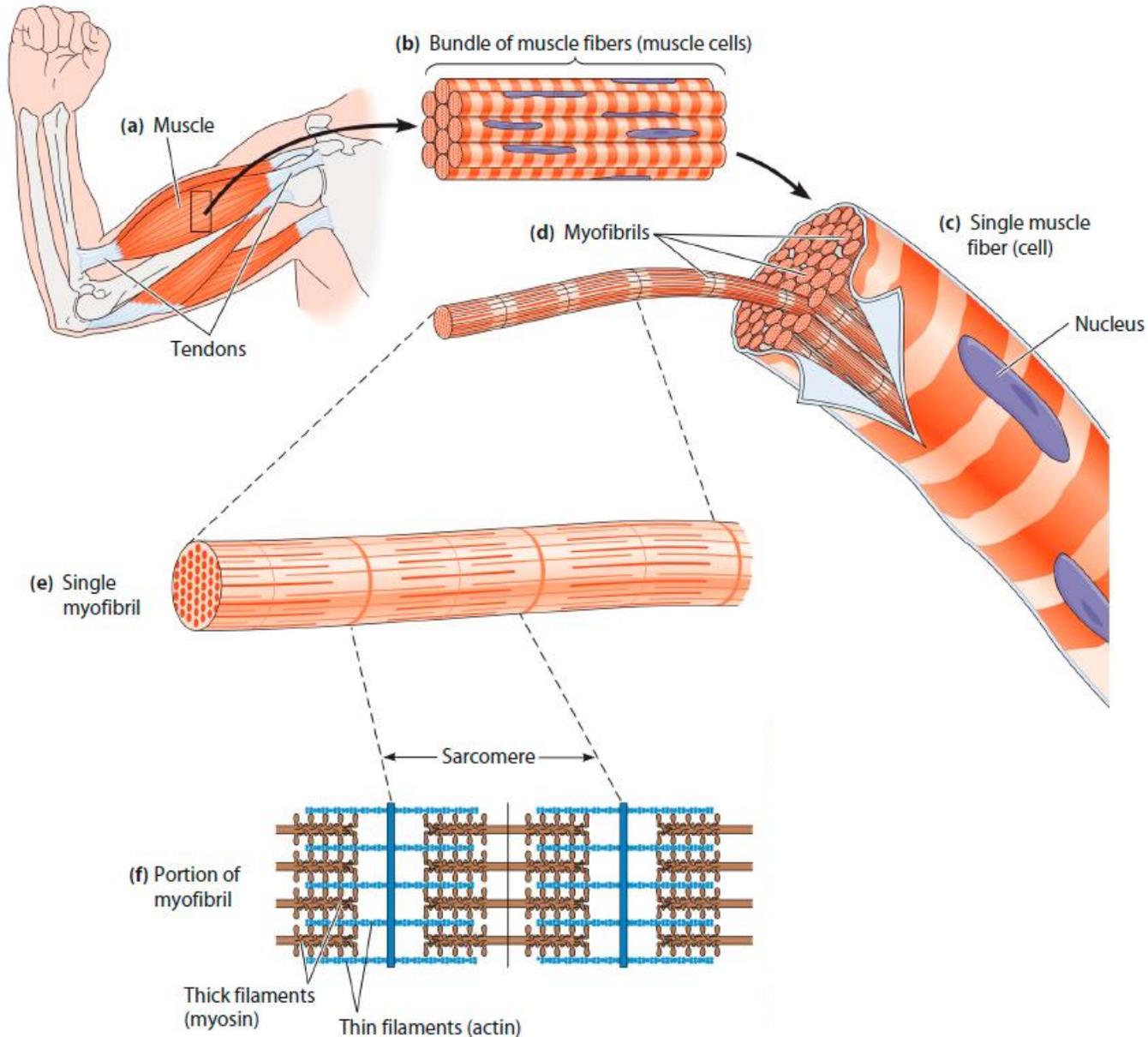
- A hidrólise do ATP é utilizada para alterar a conformação da miosina;
- Além disso a interação com ATP/ ADP altera a afinidade entre miosina e actina;
- A contração muscular resulta de ciclos sucessivos de hidrólise de ATP.

CONTRAÇÃO MUSCULAR

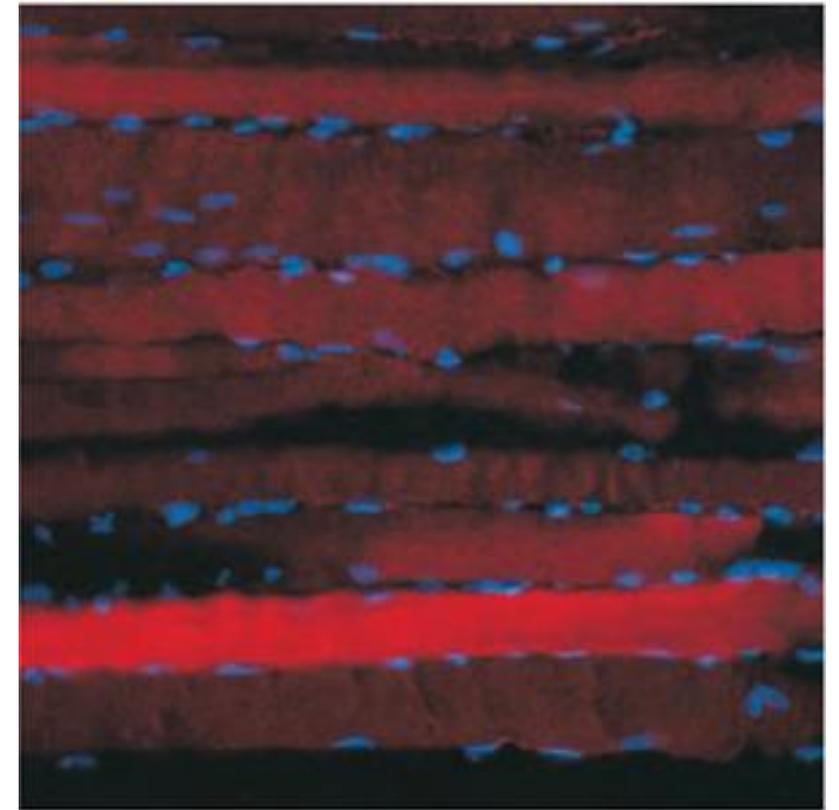
- 1) A miosina II mantém-se fortemente associada a actina na ausência de ATP;
- 2) A interação de ATP com miosina promove uma dissociação entre actina e miosina;
- 3) A hidrólise do ATP desencadeia alteração na conformação da miosina;
- Ocorre um dobramento da região globular que faz a cabeça se deslocar sobre o filamento fino, enquanto a miosina ainda está ligada a ADP e P_i ;
- 4) A miosina volta a interagir com uma actina (actina vizinha da que estava ligada) mas fracamente, e P_i é liberado;
- 5) A saída de P_i induz forte interação da miosina com a actina e consumação da energia liberada, alterando o dobramento da cabeça para conformação original, e liberando ADP;
- O resultado final da energia liberada é o deslocamento do filamento fino em direção a linha M.



CONTRAÇÃO MUSCULAR



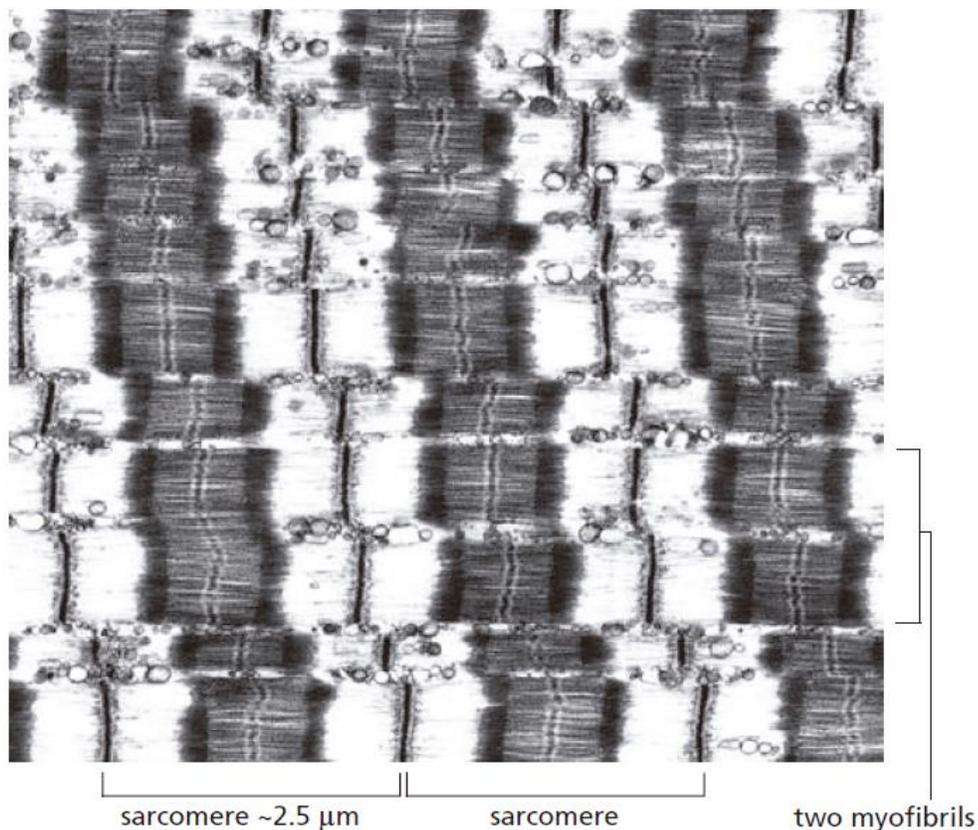
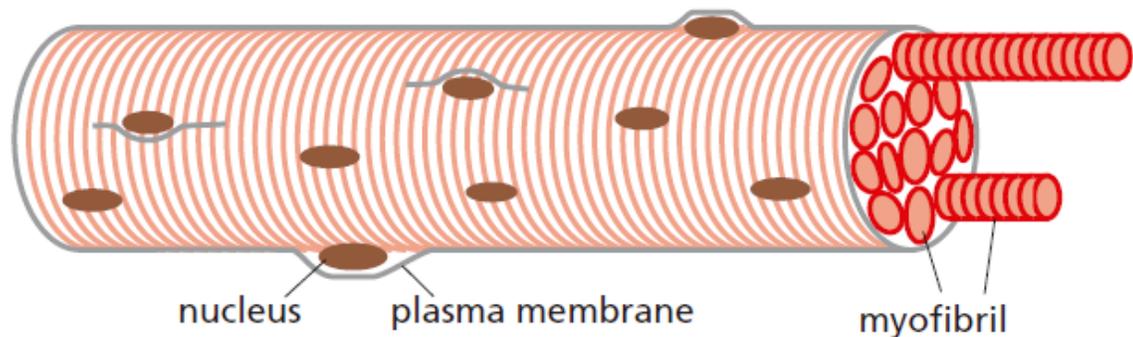
MÚSCULO ESQUELÉTICO



(B)

50 μm

CONTRAÇÃO MUSCULAR

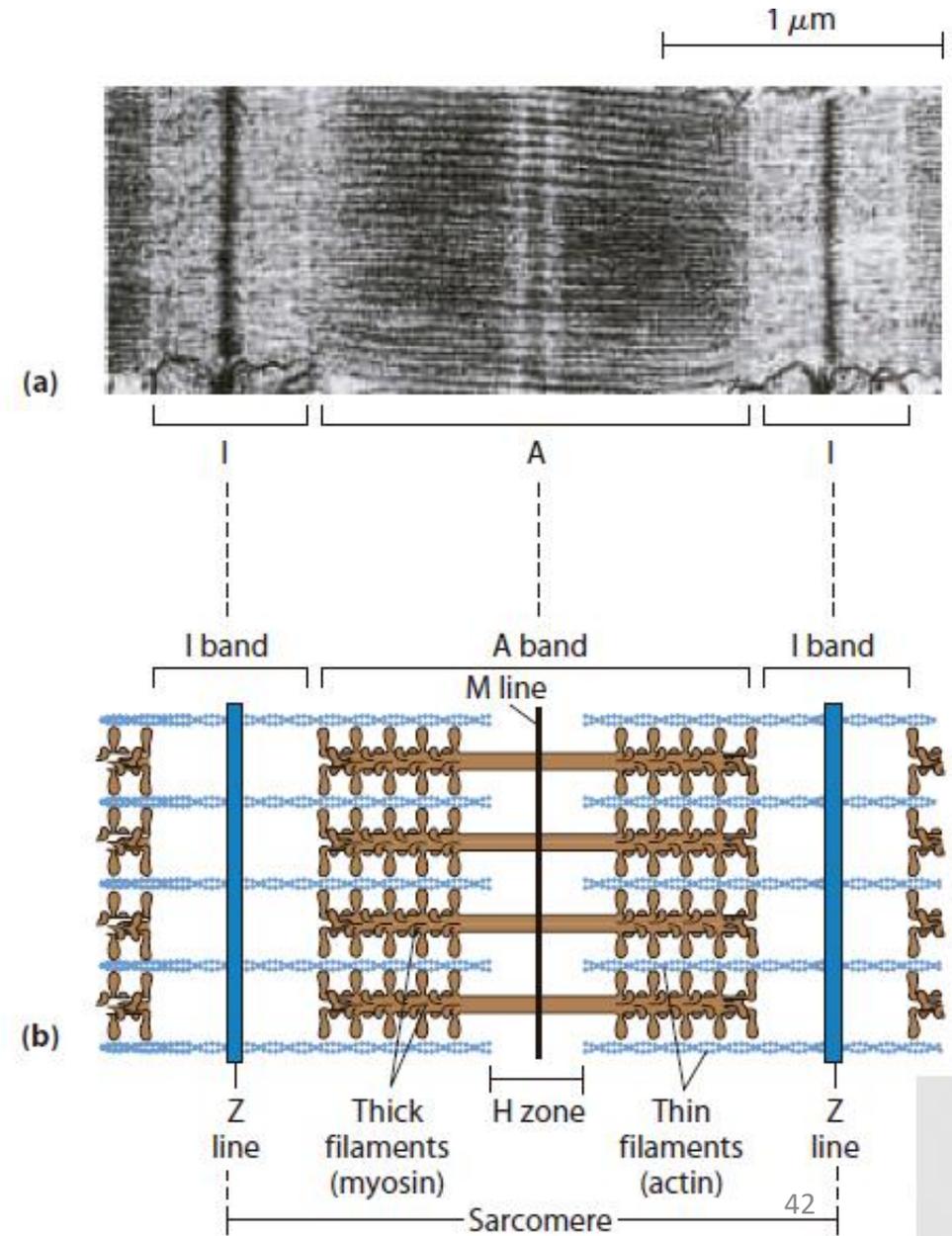


MIOFIBRILA e SARCÔMERO

- A miofibrila é estriada, o que corresponde a distribuição das fibras contráteis em unidades organizadas e repetidas, **os sarcômeros**;
- O sarcômero é um arranjo organizado de fibras paralelas:
- Fibras grossas e fibras finas parcialmente sobrepostas.

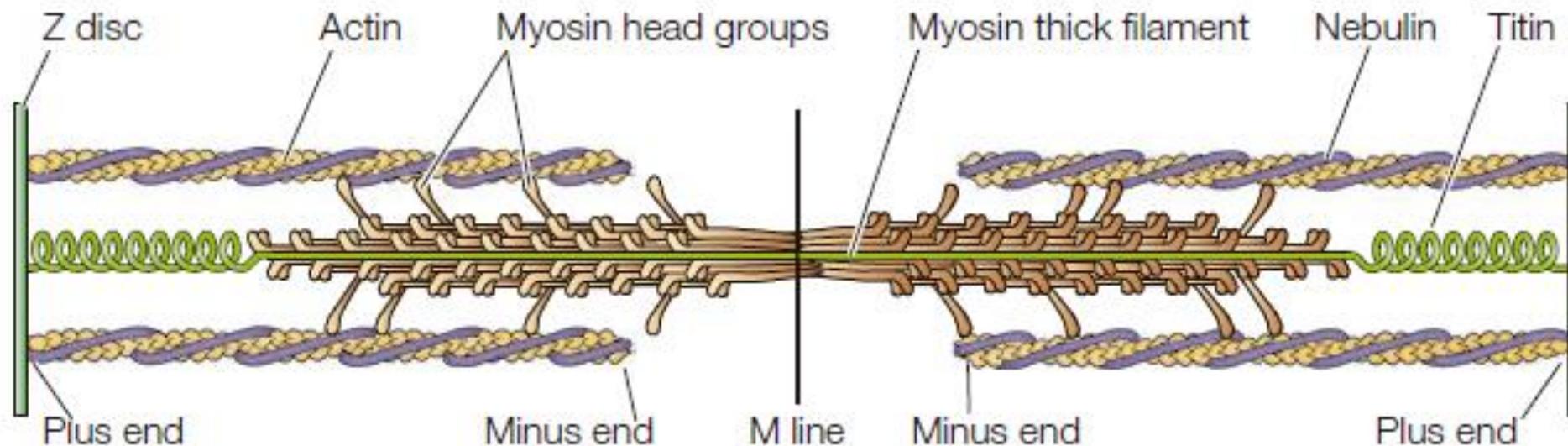
SARCÔMERO CONTRAÇÃO MUSCULAR

- A “nomenclatura” do sarcômero corresponde a visualização das suas estruturas no microscópio;
- Banda I: actina ligada na linha ou disco Z, septo que delimita o sarcômero;
- Banda A tem duas regiões:
- A mais escura corresponde a sobreposição parcial de actina com região globular das miosinas;
- Zona H (da banda A): caudas de miosina de feixes opostos interagindo entre si (na linha ou disco M no meio do sarcômero).



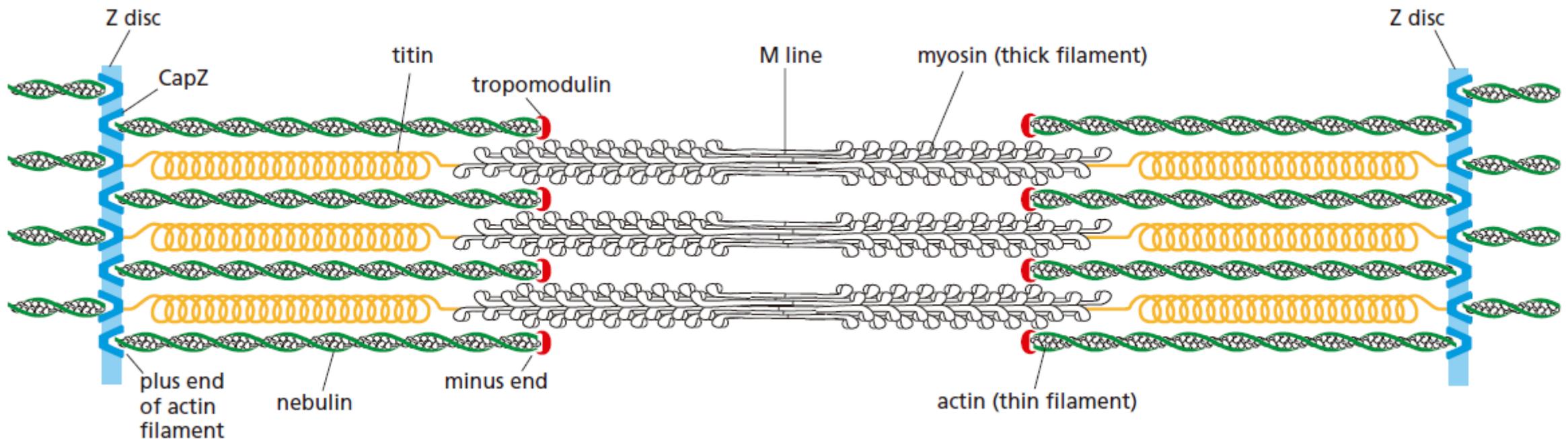
CONTRAÇÃO MUSCULAR

- O sarcômero é formado por duas metades simétricas a partir da linha M;
- A orientação (polaridade) entre as moléculas de actina e miosina são mantidas em cada metade;
- A região da cabeça das miosinas forma pontes cruzadas com a actina na região de sobreposição;
- As actinas ligam-se as extremidades do sarcômero (linha Z) pela extremidade (+).



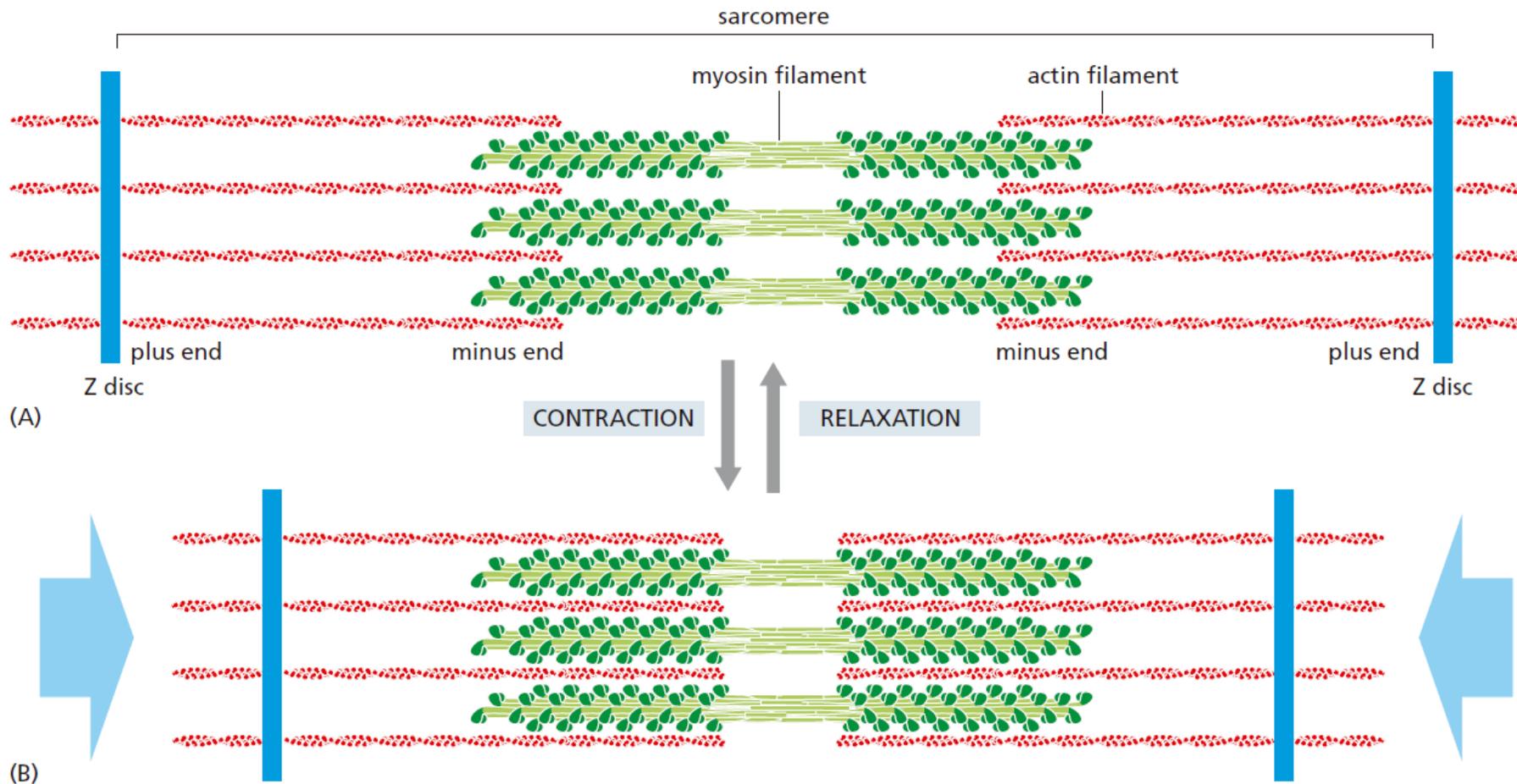
CONTRAÇÃO MUSCULAR

- Várias proteínas acessórias atuam para estrutura funcionamento do sarcômero;
- O disco Z é formado por proteínas que posicionam e estabilizam a actina;
- A nebulina estabiliza o longo do filamento de actina, da extremidade + no disco Z até a extremidade – estabilizada por tropomodulina;
- As titina posiciona os filamentos grossos de miosina no sarcômero.



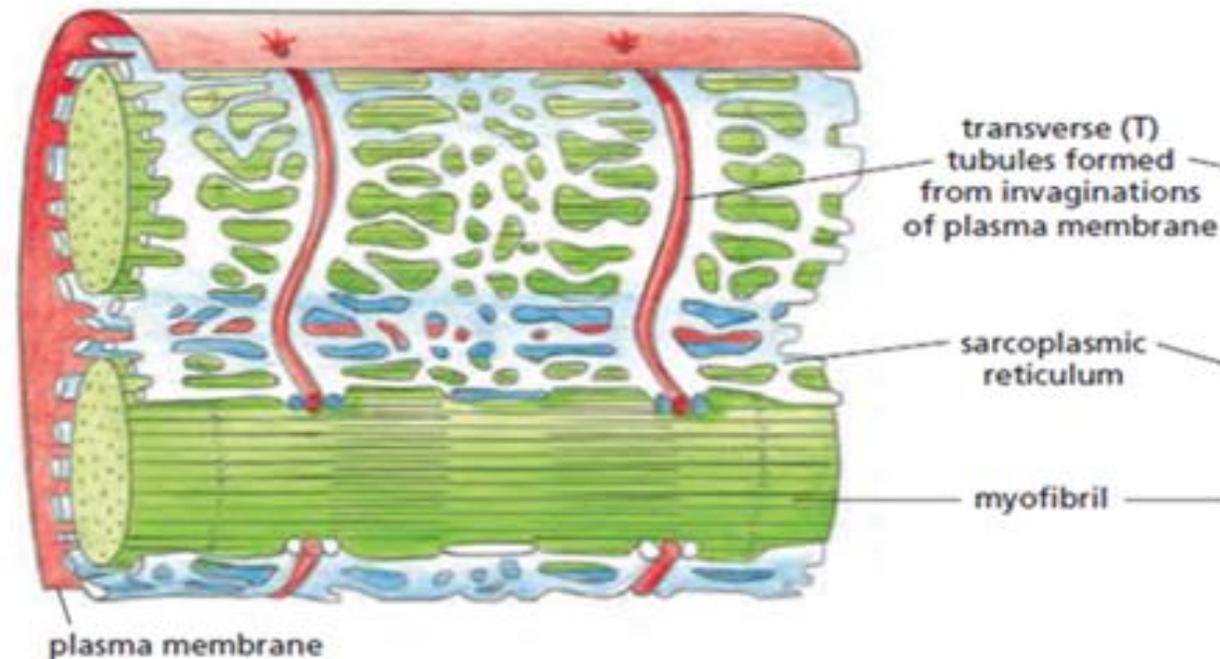
CONTRAÇÃO MUSCULAR

- A visualização da contração mostra o encurtamento dos sarcômeros:
- Aproximação entre discos Z e encurtamento da banda H;
- Ocorre um deslizamento da actina em relação a miosina.



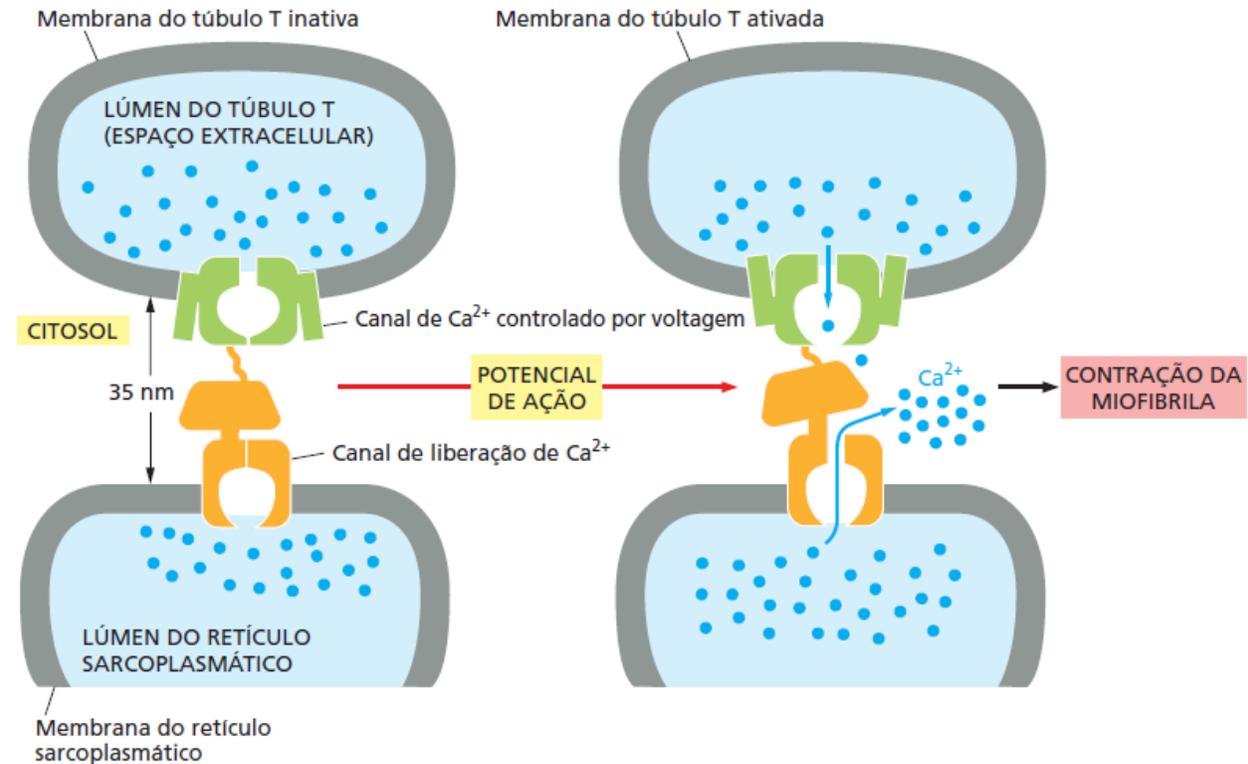
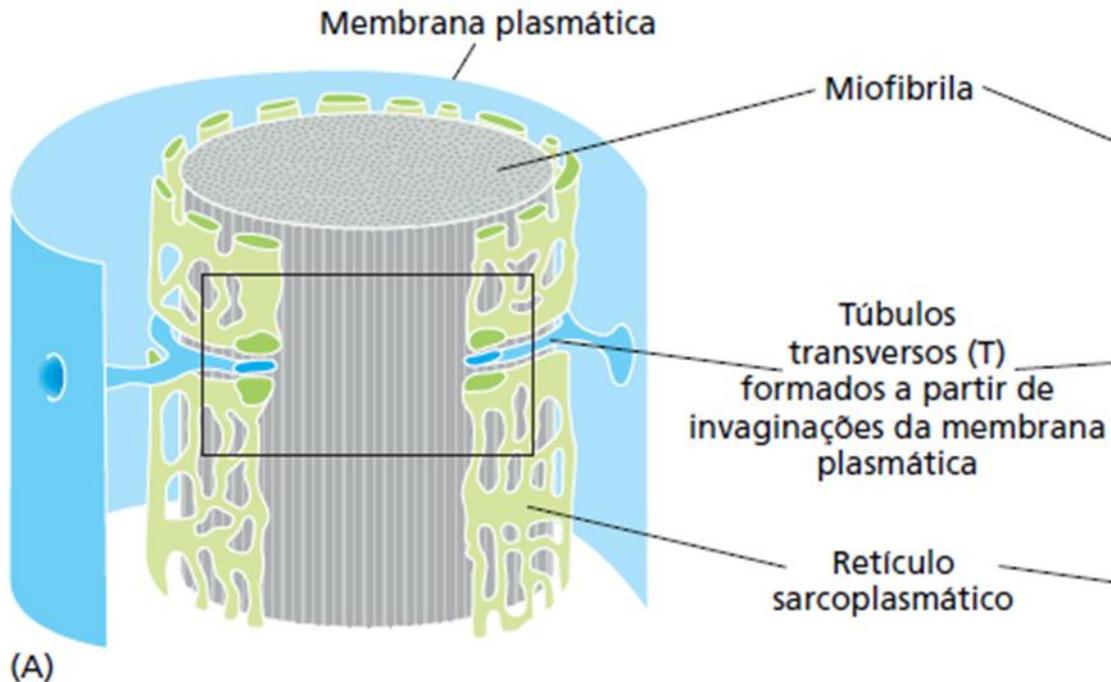
CONTRAÇÃO MUSCULAR

- A contração do músculo esquelético ocorre quando ele recebe um sinal de um nervo motor (efetor);
- Neurotransmissor liberado gera um potencial de ação nas membranas das células musculares;
- Esse sinal se espalha com o auxílio dos túbulos T (túbulos transversos);
- Ramificações internas da membrana que circundam as miofibrilas;



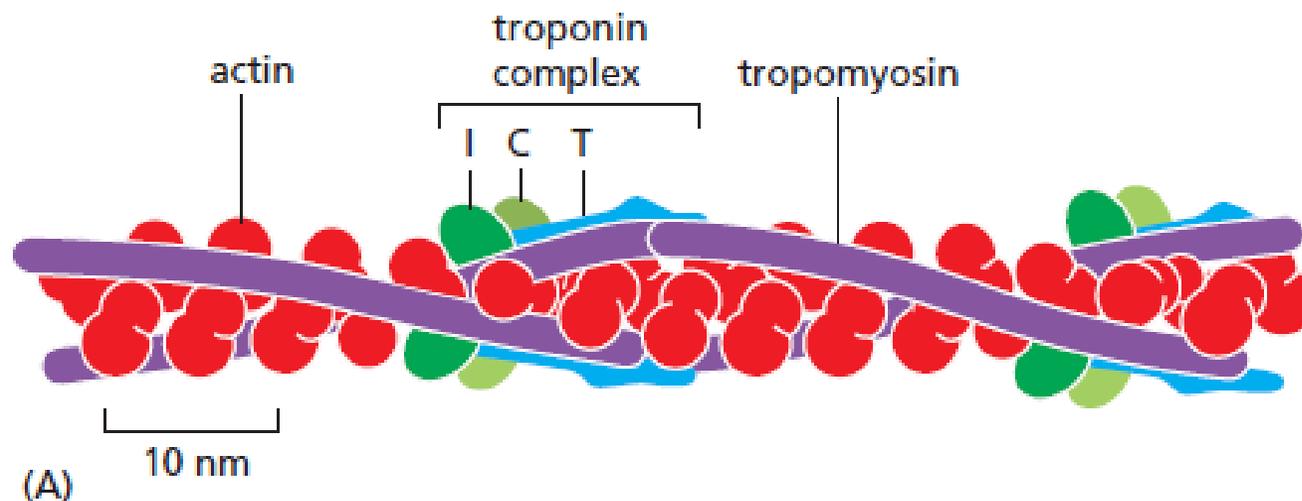
CONTRAÇÃO MUSCULAR

- O potencial de ação alcança o retículo sarcoplasmático (retículo endoplasmático especializado);
- Abrindo canais de Ca^{+2} que é liberado no citosol;
- E a presença de Ca^{+2} induz a contração muscular mediada pelo complexo troponina-tropomiosina;



CONTRAÇÃO MUSCULAR

- A troponina e a tropomiosina interagem com a actina;
- A tropomiosina é uma molécula longa, formada por duas cadeias α -hélice entrelaçadas, em formato de bastão alongado acompanhando a fibra de actina;
- E a tropomiosina se liga em sítios específicos da actina;
- A troponina é formada por 3 subunidades;
- A TnT que liga a tropomiosina, a TnC que se liga ao Ca^{+2} e a TnI que inibe a a interação.



CONTRAÇÃO MUSCULAR

- Na presença de Ca^{2+} o complexo troponina-tropomiosina altera sua conformação e expõe os sítios da actina ligadores de miosina;

