

Exercícios sobre Morte Celular – Biologia Molecular da Célula 2019

1. Apoptose ocorre durante o desenvolvimento normal do nematoda *Caenorhabditis elegans*. Mutações em dois genes chamados *ced-3* and *ced-9* afetam esse processo. Em ensaios de perda-de-função (LF = *loss of function*) ou ganho-de-função (GF = *gain-of-function*) foram feitas as seguintes observações:

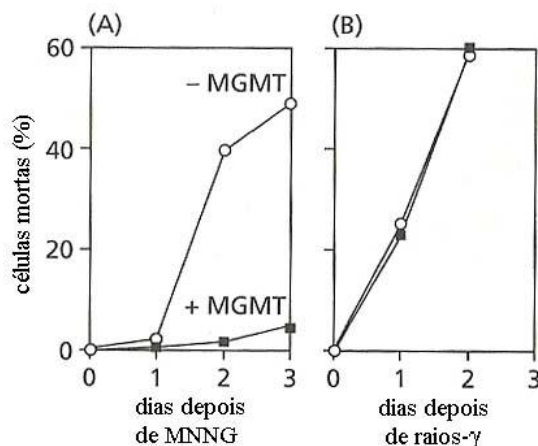
mutação	fenótipo
Nenhuma (gene selvagem)	Algumas células morrem
<i>ced-3</i> LF	Todas as células sobrevivem
<i>ced-9</i> GF	Todas as células sobrevivem
<i>ced-9</i> LF	Mais células morrem do que no animal selvagem
<i>ced-9</i> LF; <i>ced-3</i> LF	Todas as células sobrevivem

De que maneira(s) esses genes poderiam atuar em uma via de sinalização que regula a morte celular nesse organismo? Explique o seu raciocínio brevemente.

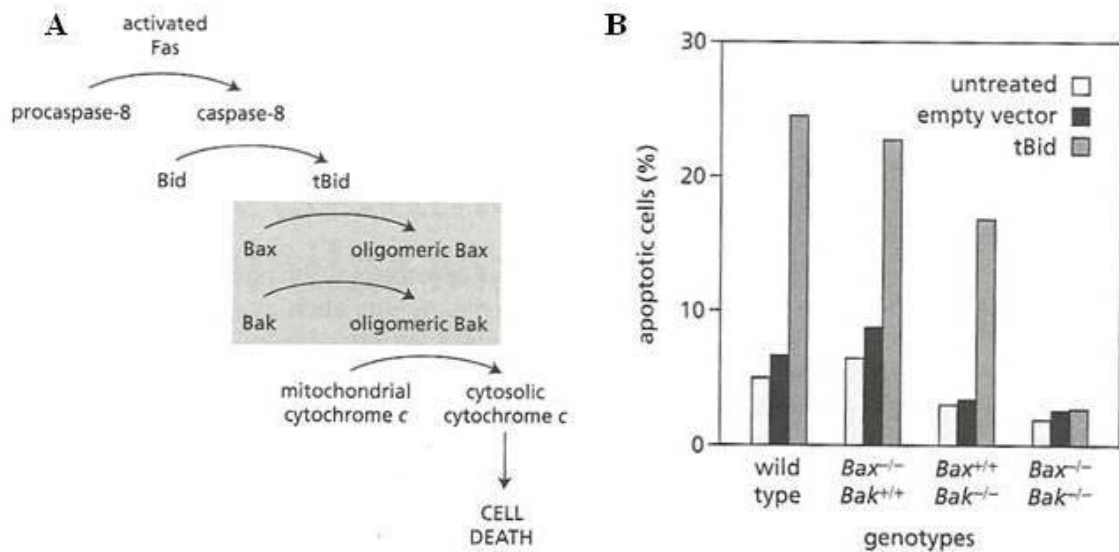
Utilize os símbolos → (ATIVA) ou --| (INIBE) para facilitar minha correção 😊

2. Citocromo c foi microinjetado dentro do citoplasma de uma célula normal e de uma célula deficiente na expressão de Bax e Bak, duas proteínas pró-apoptóticas efetoras da família Bcl-2. Você espera que a célula normal, a deficiente ou ambas morram? Explique sucintamente o seu raciocínio.

3. O agente alquilante *N*-metil-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidina (MNNG) alquila o DNA, sendo por isso tóxico para as células. MNNG é usado na quimioterapia para induzir apoptose das células tumorais. A formação de O⁶-metilguanina resulta da alquilação de guanina e é a lesão mais frequente no DNA. Essa lesão é reparada pela enzima O⁶-metilguanina metiltransferase (MGMT). Para investigar se a alquilação do DNA é responsável pela morte celular, você comparou a indução de morte celular por MNNG em células deficientes em MGMT (gráfico A, círculos brancos) e em células que super-expressam MGMT (gráfico A, quadrados pretos). Como controle, você comparou a morte celular induzida por radiação- γ (gráfico B). Esses resultados sustentam a hipótese de que a alquilação do DNA causa a morte celular? Por que sim, ou por que não?



4. A ativação do receptor de morte Fas (*activated Fas*) leva a uma cascata de ativação de diversas proteínas que resulta na liberação de citocromo c mitocondrial para o citossol e a consequente morte celular, como mostra o esquema da figura 1A. Para conhecer os detalhes dessa via, cientistas geraram células que não expressam *Bax* (*Bax*^{-/-}), não expressam *Bak* (*Bak*^{-/-}) ou não expressam ambos os genes (*Bax*^{-/-} *Bak*^{-/-}). Eles também construíram um vetor para expressar tBid para estudar o processo de maneira independente da ativação do receptor de morte Fas. Entre essas células mutantes, citocromo c é retido na mitocôndria somente nas células *Bax*^{-/-}*Bak*^{-/-} que expressam tBid. A porcentagem de células mutantes e das células normais (*wild type*) que sofreram apoptose foi medida e plotada no gráfico mostrado na figura 1B. O que esses resultados indicam sobre a necessidade is.



Legenda: **A.** cascata descrita no enunciado do problema. Bax e Bak estão sombreados para indicar que ambos dependem de tBid. **B.** *untreated* – células não transfectadas; *empty vector* = vetor vazio – transfecção com vetor que não expressa nenhuma proteína. tBid – transfecção com o vetor que expressa tBid

5. A ingestão de aflotoxinas induz danos ao DNA e uma mutação no gene que codifica a proteína p53, tornando-a não funcional. Nesse caso, o que você espera que aconteça com a probabilidade dessa célula entrar em apoptose na ocorrência de danos adicionais ao DNA? Explique sucintamente.