

# CITOESQUELETO

. Microtúbulos, microfilamentos e filamentos intermédios.

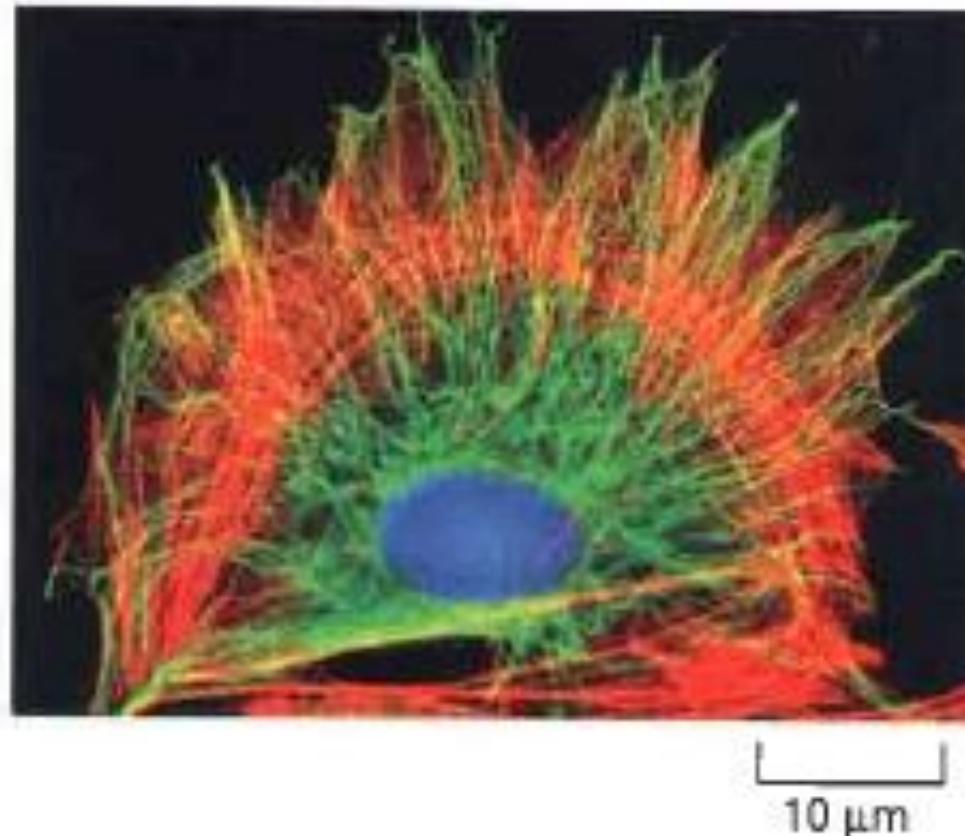
Organização, estrutura e função

. Transporte intracelular

Para um correcto funcionamento, as células têm de se **organizar espacialmente** e **interagir mecanicamente** com o seu ambiente externo.

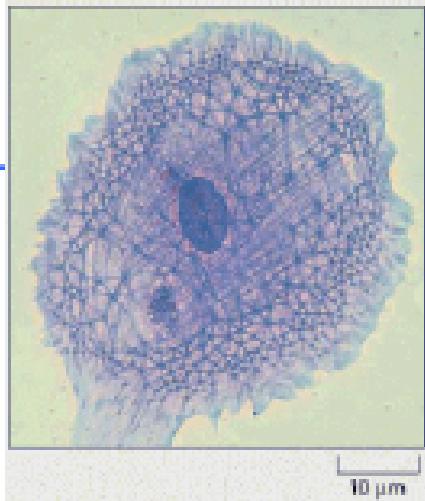
As células têm de ter a **forma correcta**, ser **fisicamente robustas** e devidamente **estruturadas internamente**. Muitas células têm de mudar os seus componentes internos à medida que crescem, se dividem e/ou se adaptam ao ambiente.

As células eucariotas desenvolveram todas estas funções espaciais e mecânicas a um grau muito elevado, e dependem de um sistema notável de filamentos designados de **CITOESQUELETO**.



## CITOESQUELETO

→ complexo proteico no citoplasma



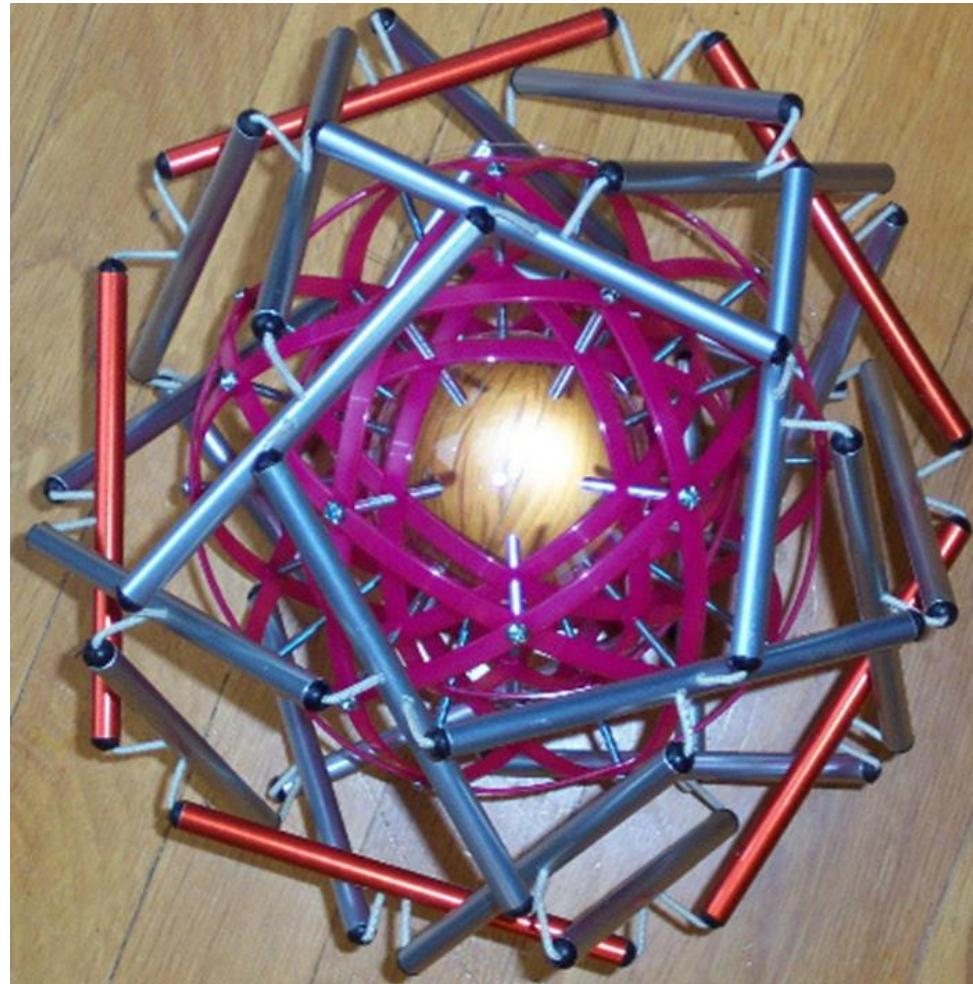
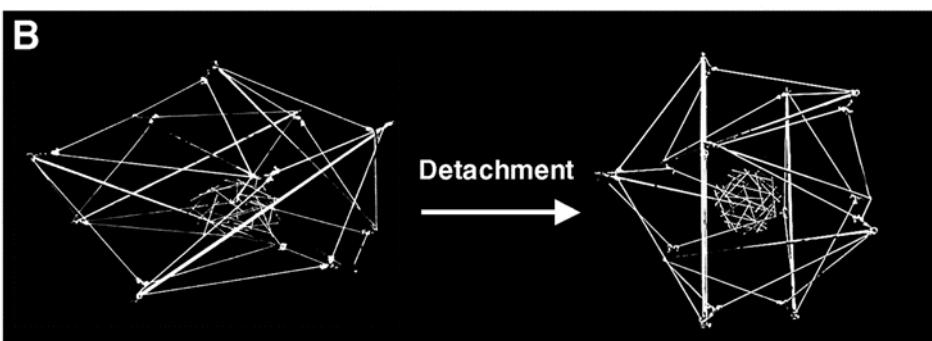
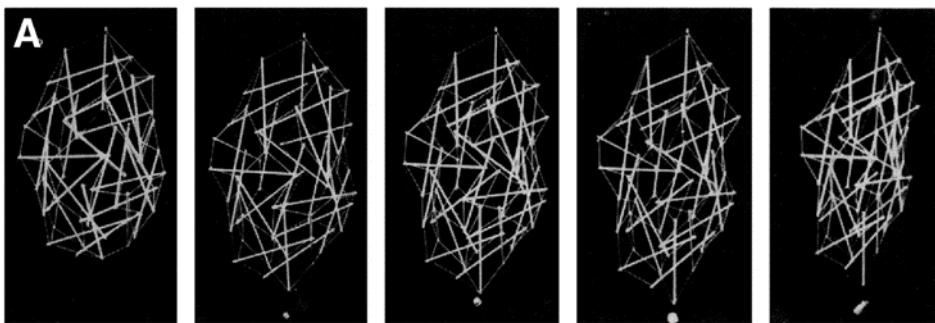
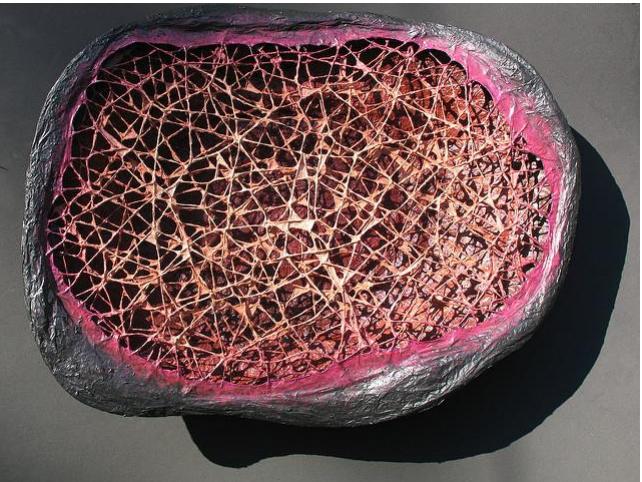
→ funções:

- forma das células
- organização estrutural e funcional do espaço intracelular
- movimentação e transporte de elementos e estruturas

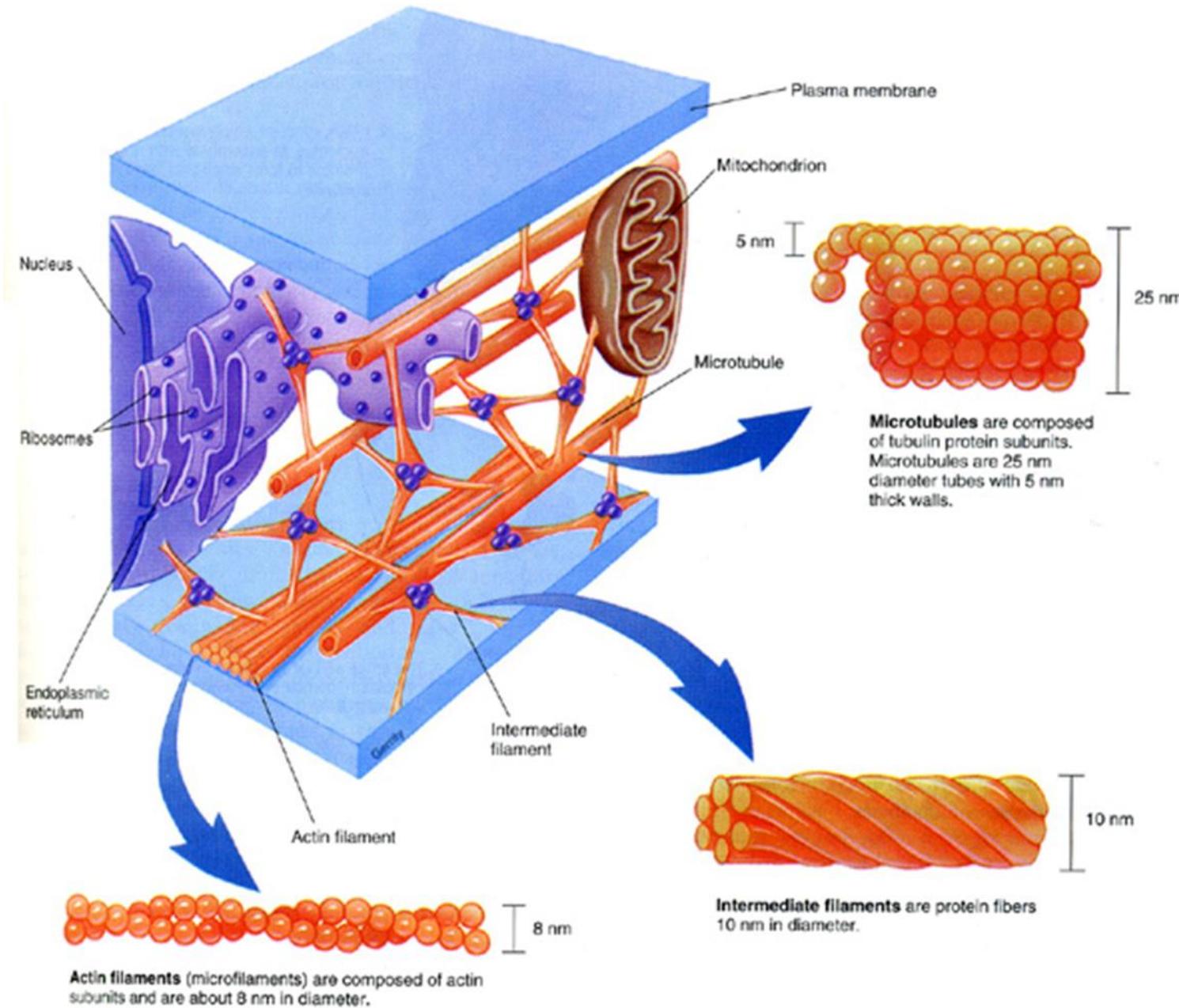
→ elementos estruturais do citoesqueleto:

- **microfilamentos (filamentos de actina / MFs)**
- **filamentos intermédios (FIs)**
- **microtúbulos (MTs)**

O citoesqueleto confere a estabilidade, a estrutura, a morfologia (dinâmica) das células “de dentro para fora”



# O citoesqueleto mantém os organelos organizados no citosol

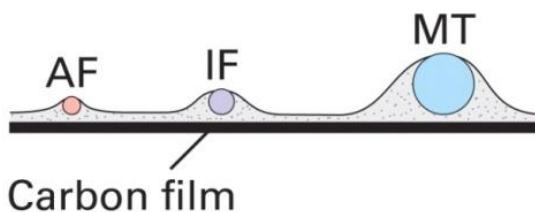
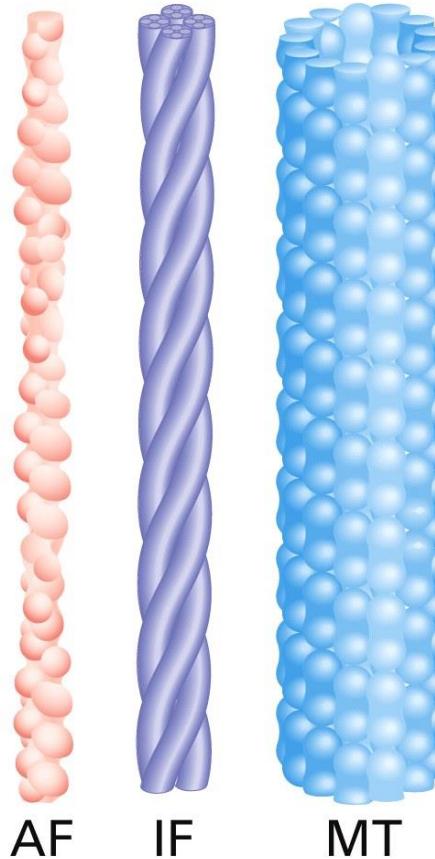


A maioria das células animais têm três tipos de filamentos do citoesqueleto que são responsáveis pela organização espacial das células e pelas propriedades mecânicas:

- Filamentos Intermédios – proporcionam resistência mecânica.

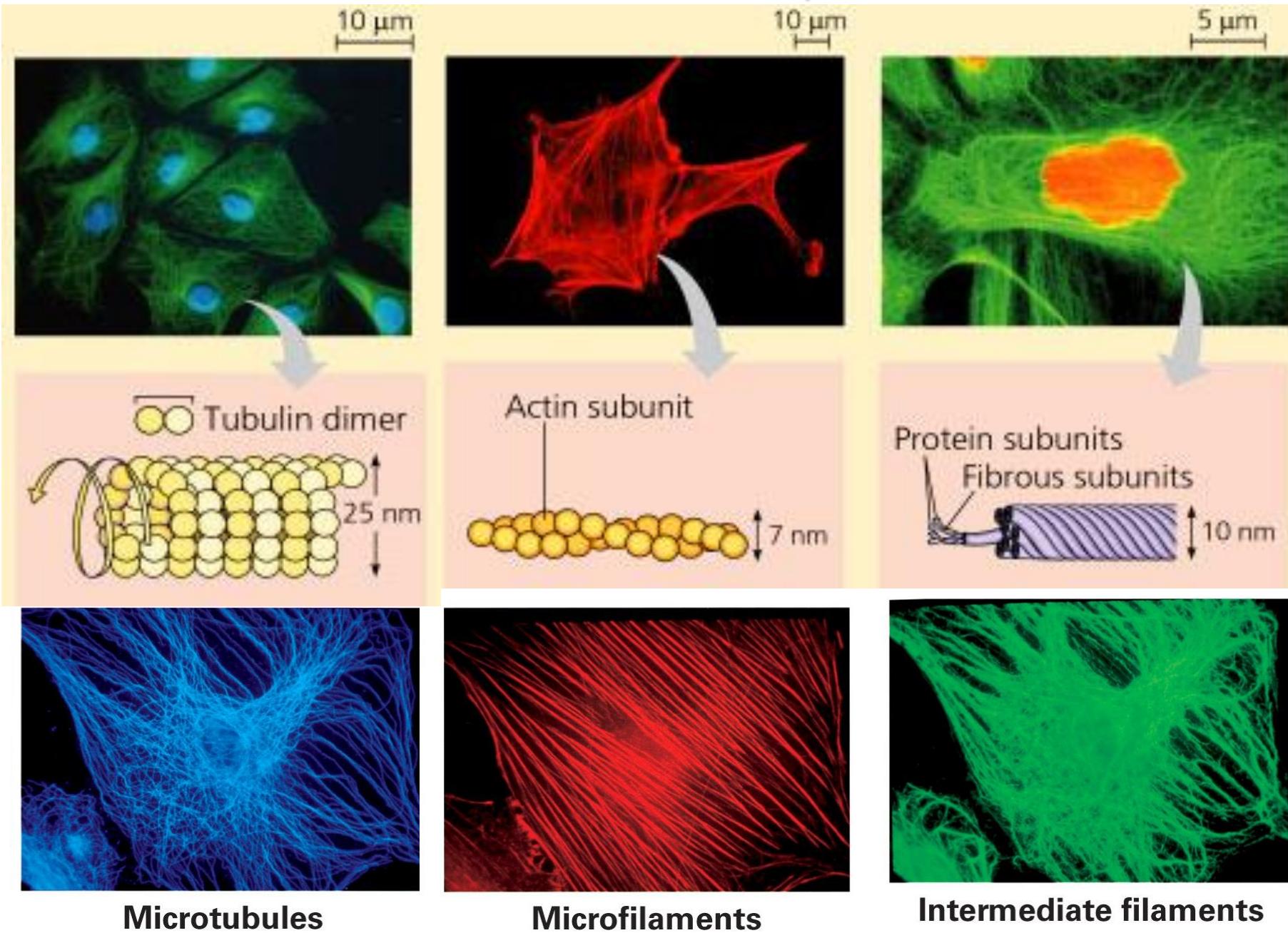
- Microtúbulos – determinam a posição dos organelos no citosol e estão envolvidos/regulam o transporte intracelular.

- Microfilamentos or filamentos de actina – determinam a forma da superfície celular e são necessários para a locomoção celular e transporte em micro-distâncias.



Existem mais proteínas complementares que são essenciais para a organização e função dos filamentos do citoesqueleto.

# Elementos do Citoesqueleto



- ✿ O citoesqueleto é **dinâmico e adaptável**.
- ✿ As estruturas fundamentais (maiores) do citoesqueleto podem **alterar-se ou persistir**, de acordo com a necessidade, em intervalos de tempo que variam de menos de um minuto até à vida toda da célula.
- ✿ Os componentes macromoleculares individuais que compõem estas estruturas estão num estado **constante de alterações estruturais e interações** entre si e com componentes celulares – estruturas dinâmicas. Estes rearranjos estruturais em função de condições ambientais/adaptação da célula requerem **sempre consumo de energia**.
- ✿ A regulação do comportamento dinâmico e a estruturação dos filamentos do citoesqueleto permitem que as células eucarióticas possuam uma enorme gama morfologias e estruturas adaptadas ao meio e às condições, a partir apenas dos três conjuntos de filamentos básicos comuns a todas as células.

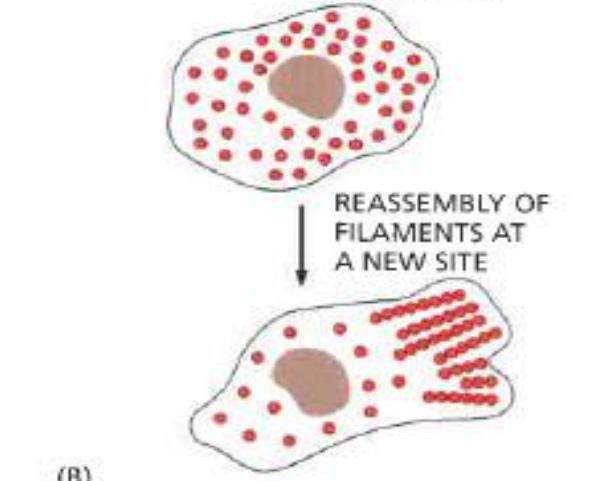
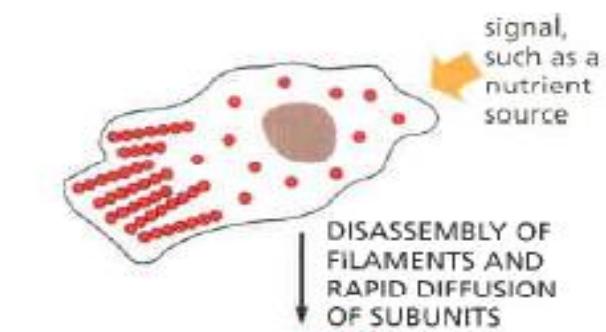
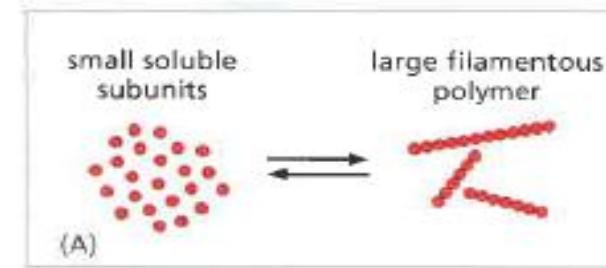
As estruturas do citoesqueleto frequentemente **chegam de uma extremidade à outra da célula**, abrangendo dezenas ou mesmo centenas de **micrómetros**.

No entanto, as proteínas individuais do citoesqueleto possuem geralmente apenas alguns **nanómetros** de tamanho.

A célula constrói as grandes estruturas pela **montagem repetitiva (polimerização)** de um grande número de pequenas unidades.

As subunidades são pequenas e podem **difundir-se rapidamente** no citoplasma.

Assim, as células podem sofrer **reorganizações estruturais rápidas**, desmontando (despolimerizando) filamentos num local e reorganizando-os (polimerizando) noutro local distante.



## Microtúbulos

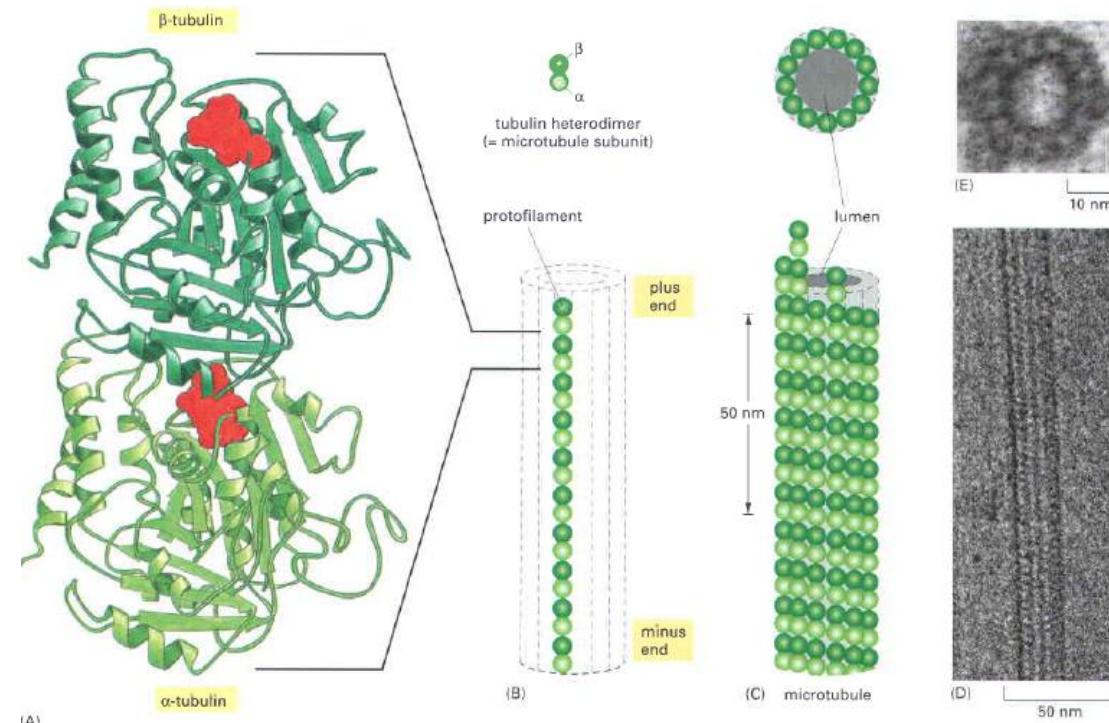
Formados por heterodímeros de  $\alpha$ - e  $\beta$ -tubulina intimamente associados por ligação não covalentes.

Cada monómero  $\alpha$  e  $\beta$  possui um local de ligação para uma molécula de GTP.

O GTP ligado à  $\alpha$ -tubulina fica estruturalmente “preso” e nunca é hidrolizado. O nucleótido na  $\beta$ -tubulina pode ser o GTP ou o GDP, e são interconvertíveis.

O microtúbulo é uma estrutura cilíndrica oca construída a partir de 13 protofilamentos paralelos.

Cada protofilamento é composto por moléculas de  $\alpha$ -tubulina e  $\beta$ -tubulina alternadas.



## Microtúbulos

Quando os heterodímeros de tubulina se juntam geram dois novos tipos de interações proteína-proteína:

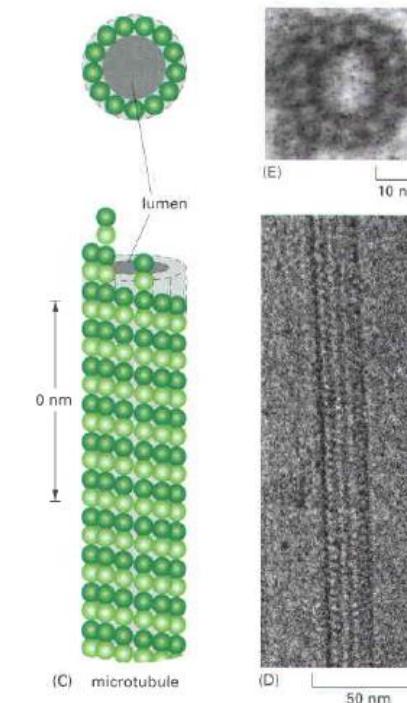
- 1- Ao longo do eixo longitudinal, o topo de uma  $\beta$ -tubulina forma uma interface com a base de uma  $\alpha$ -tubulina no heterodímero adjacente;
- 2- Perpendicular a estes, protofilamentos vizinhos formam contatos laterais ( $\alpha$ - $\alpha$  e  $\beta$ - $\beta$ ).

Assim, a adição e perda de subunidades ocorre quase exclusivamente nas extremidades dos microtúbulos.

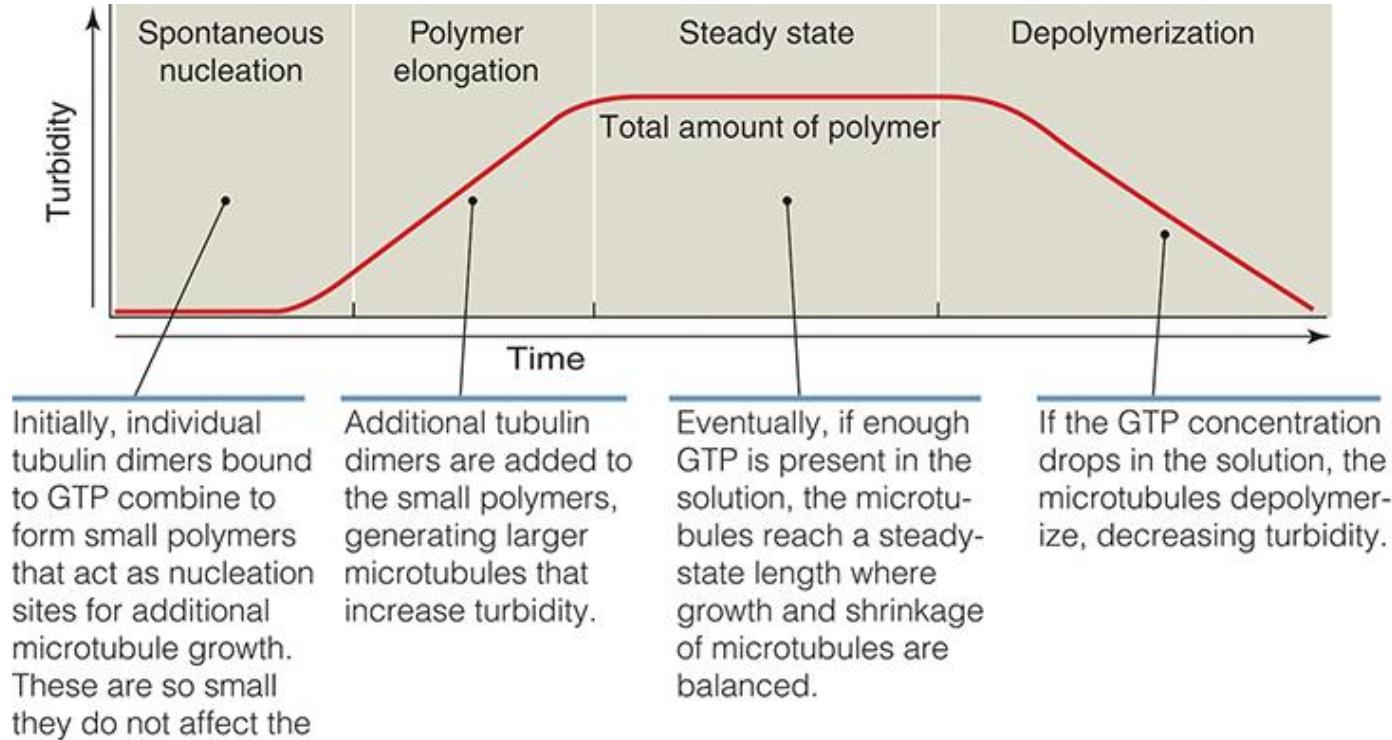
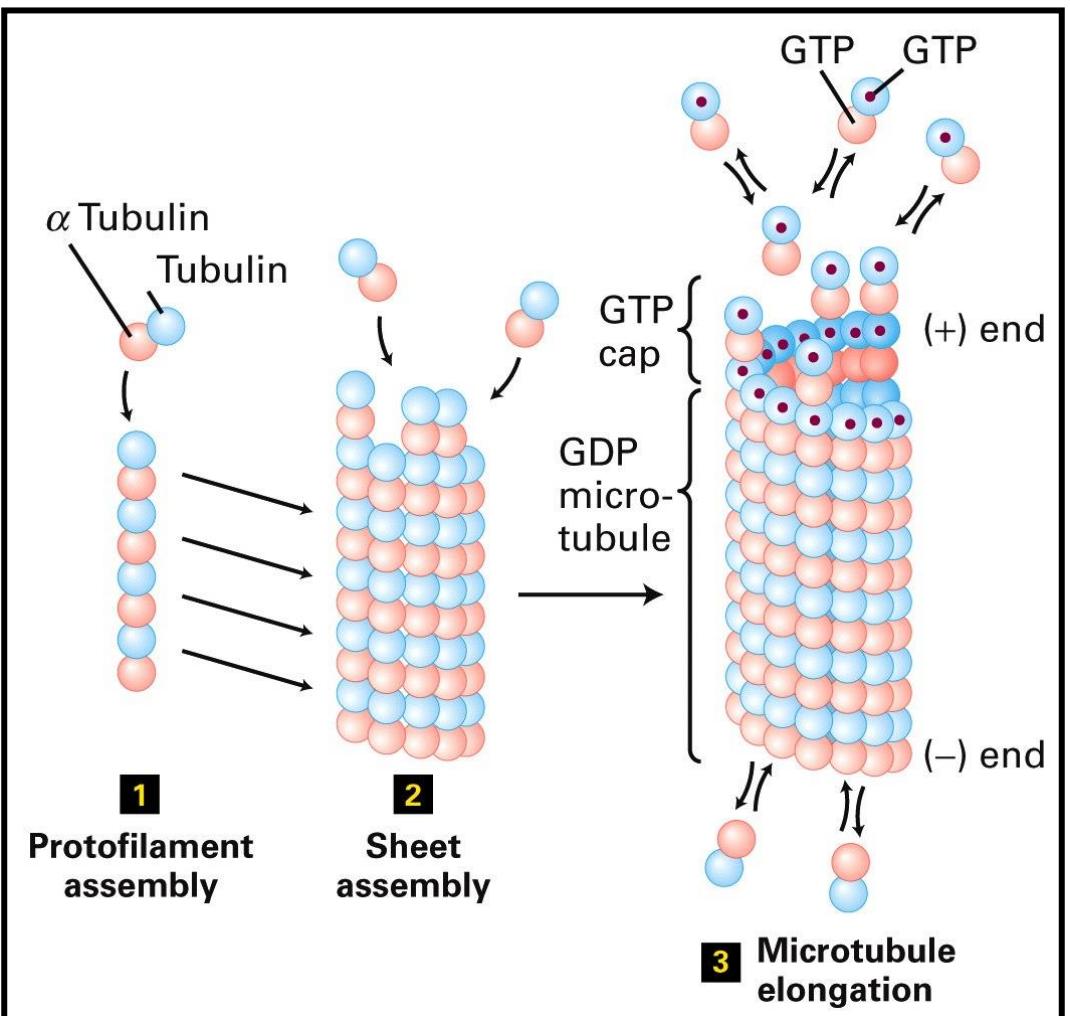
Esses contatos tornam os microtúbulos rígidos e difíceis de dobrar.

As subunidades em cada ponto de protofilamento apontam para as mesmas direções e os protofilamentos estão alinhados em paralelo.

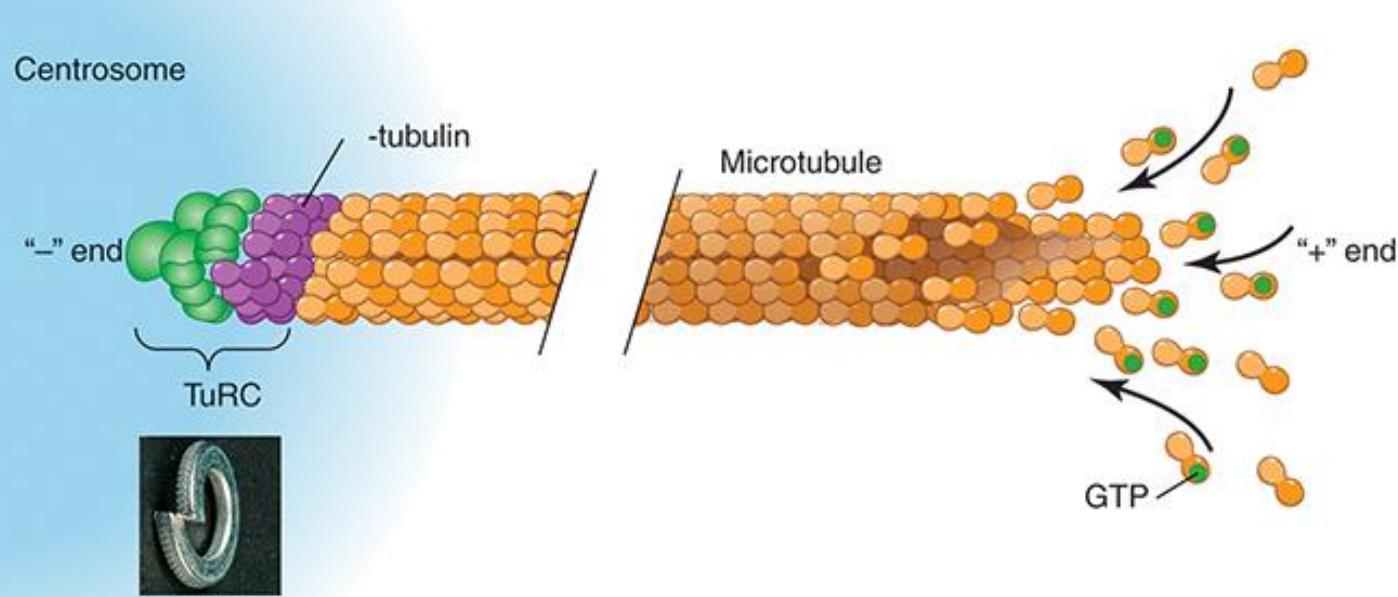
Portanto, o microtúbulo tem uma polaridade estrutural distinta, com  $\alpha$ -tubulinas expostas numa extremidade e  $\beta$ -tubulinas expostas na outra extremidade.



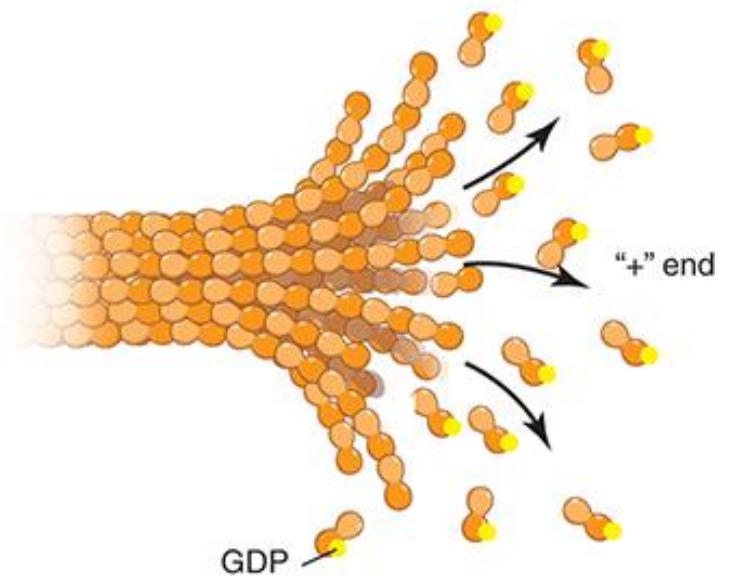
## Etapas da polimerização dos microtúbulos



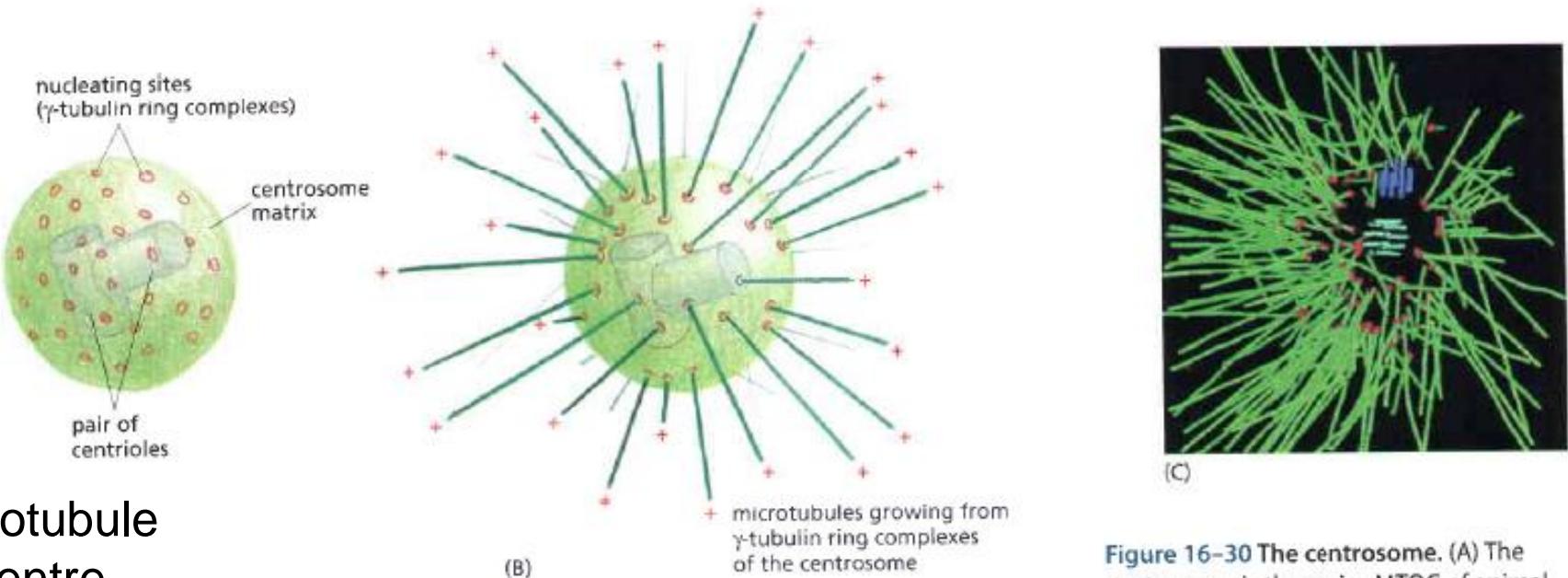
*In vitro* assembly of microtubules is spontaneous and GTP dependent. The graph represents the turbidity of a solution of α-β tubulin dimers over time.



$\gamma$ -tubulin ring complex ( $\gamma$ TuRC)



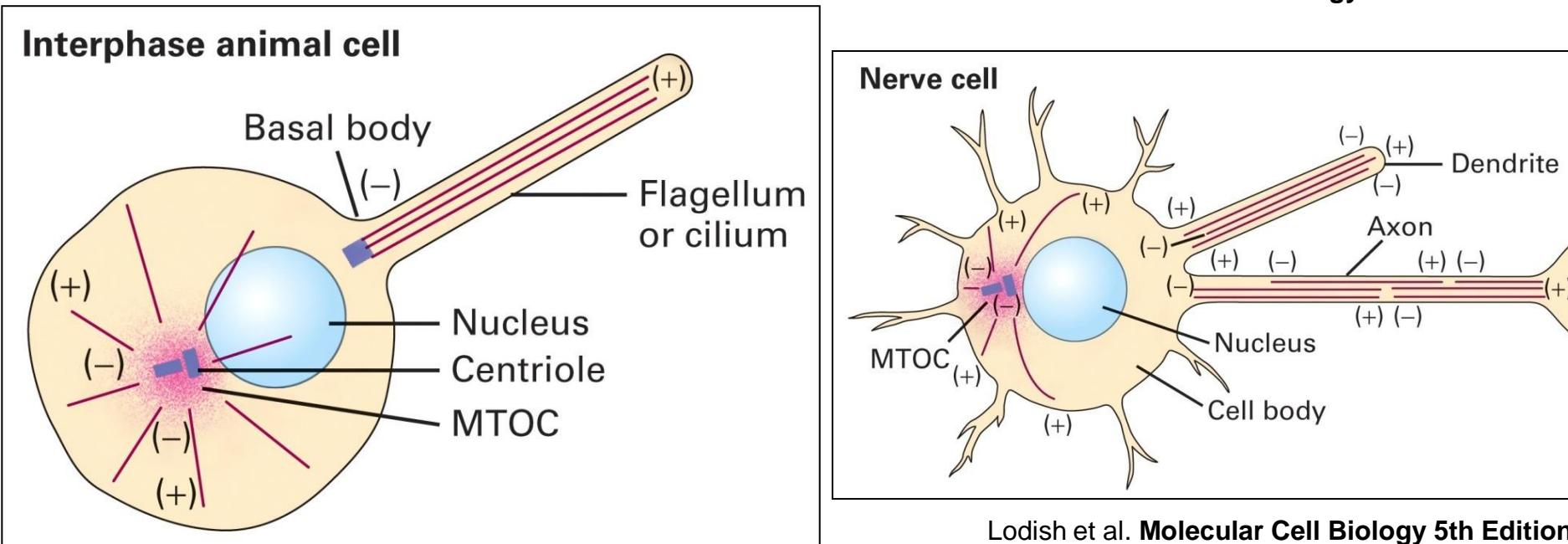
## Nucleação dos microtúbulos



**MTOC – Microtubule Organizing Centre**

Figure 16–30 The centrosome. (A) The centrosome is the major MTOC of animal

Alberts et al. *Molecular Biology of the Cell* 5th Ed



Lodish et al. *Molecular Cell Biology* 5th Edition

Os **microtúbulos**, que são frequentemente encontrados num arranjo citoplasmático em forma de estrela emanando do **centro de uma célula interfásica**, podem se rearranjar rapidamente para formar um **fuso mitótico bipolar** durante a divisão celular.

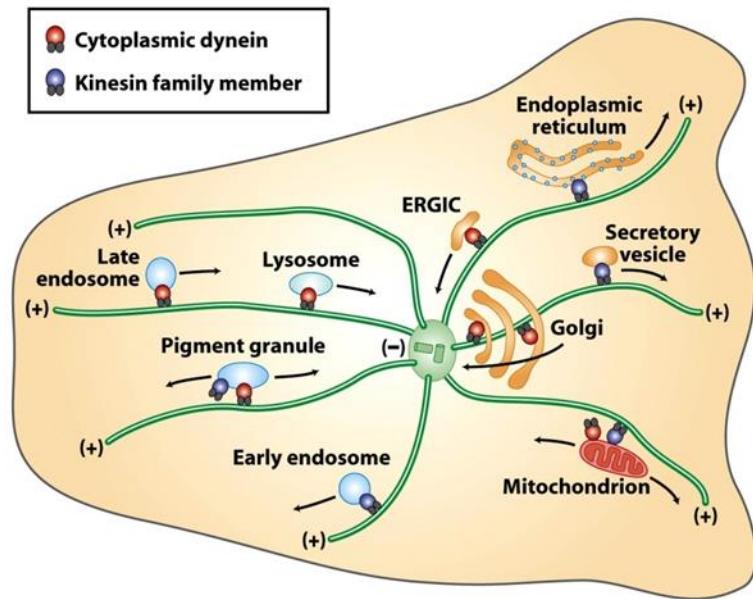
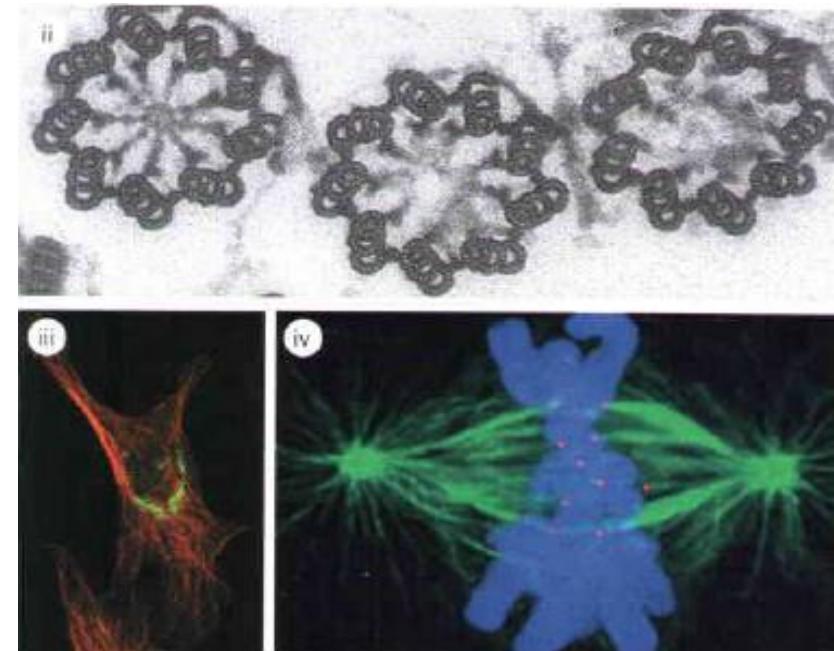
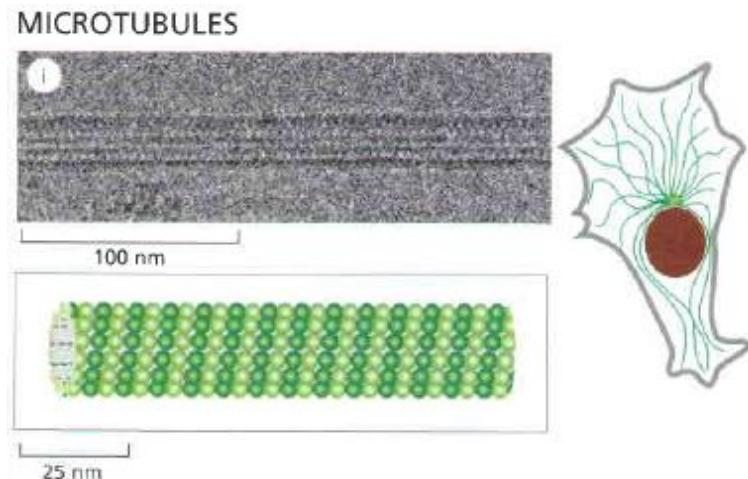


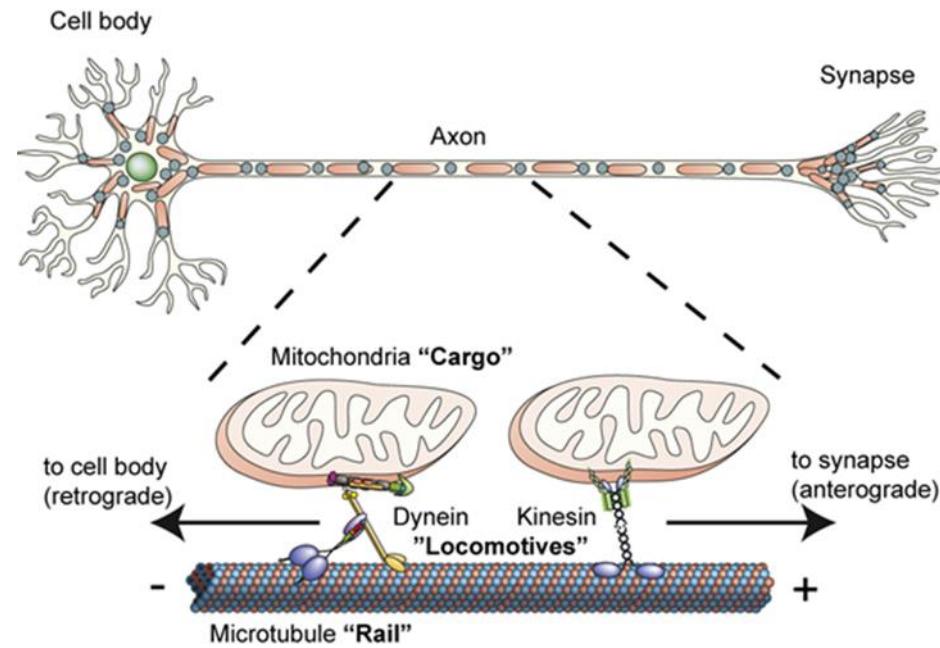
Figure 18-27  
Molecular Cell Biology, Sixth Edition  
© 2008 W.H. Freeman and Company



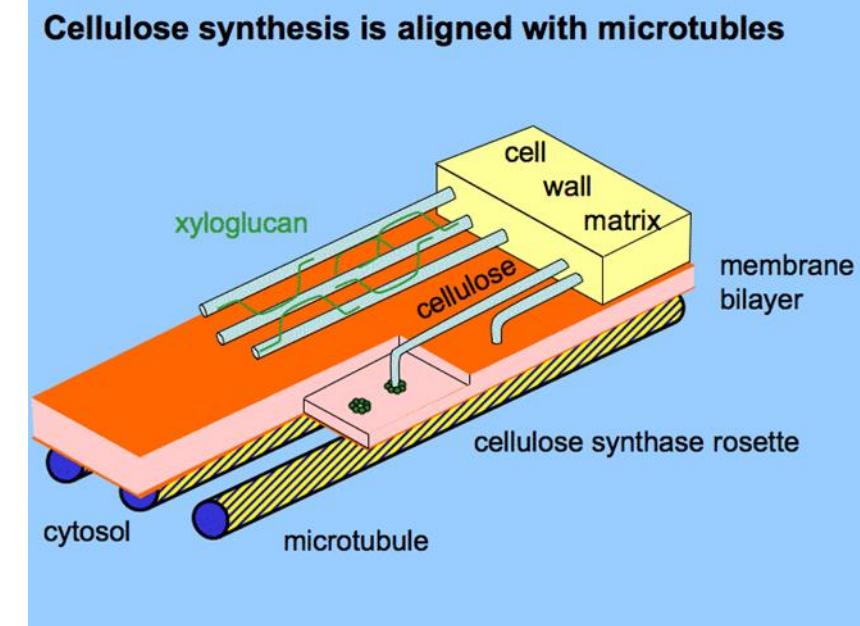
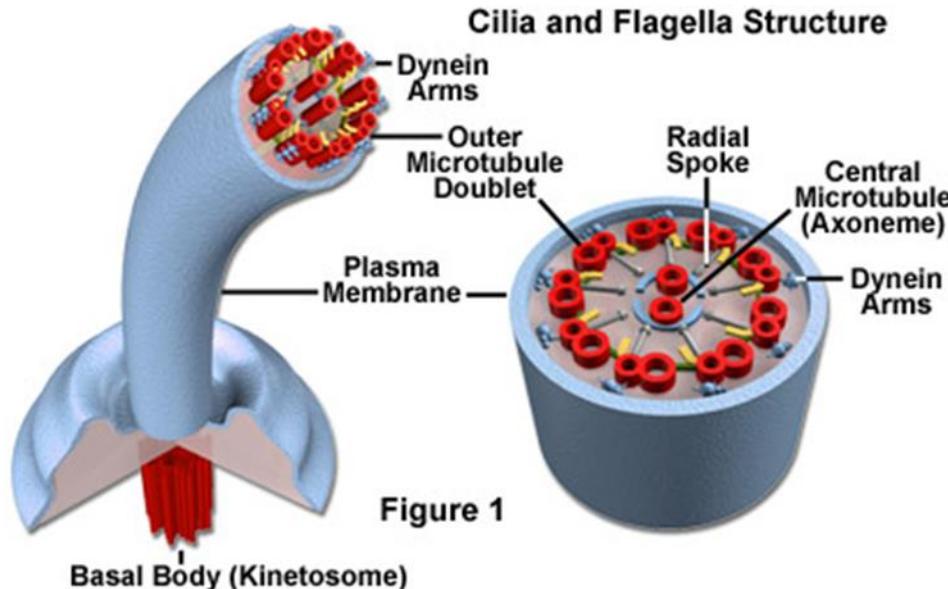
Alberts et al. Molecular Biology of the Cell 5th Ed

Outras estruturas formadas pelos microtubulos:

- Cílios e flagelos
- Transporte nos axónios dos neurónios
- Orientação na formação da parede celular em células vegetais



De Vos, Kurt J., et al. "Role of Axonal Transport in Neurodegenerative Diseases." *Annual Review of Neuroscience* 31 (2008).



## Filamentos de Actina (microfilamentos)

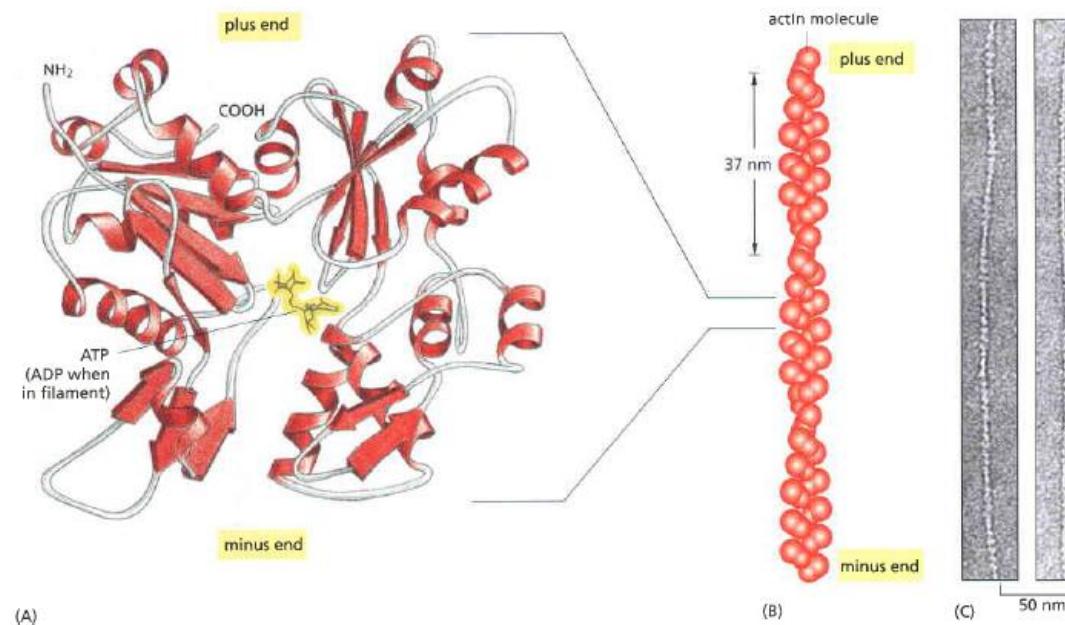
A subunidade de actina é uma única cadeia polipeptídica globular (monómero). Cada subunidade liga-se a um ATP (ou ADP).

Tal como a tubulina, as subunidades de actina juntam-se cabeça com cauda para gerar filamentos com uma polaridade estrutural distinta.

O filamento de actina consiste em dois protofilamentos paralelos que se enrolam numa hélice para a direita.

Os filamentos de actina são relativamente flexíveis e fáceis de dobrar (maleáveis).

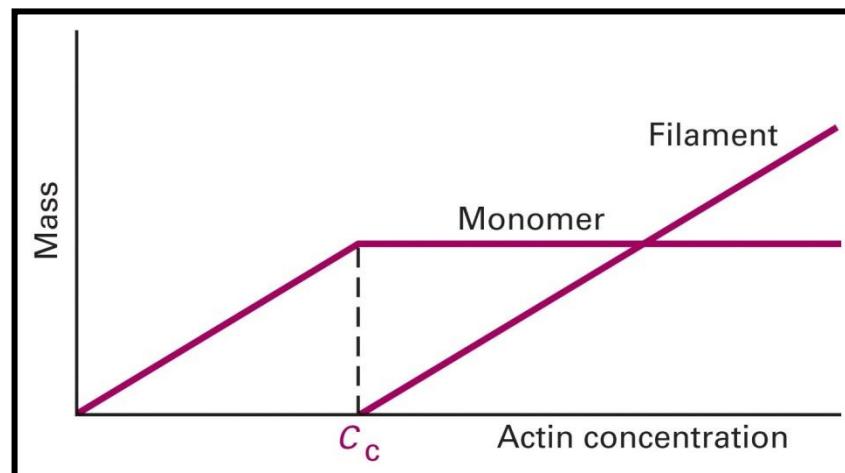
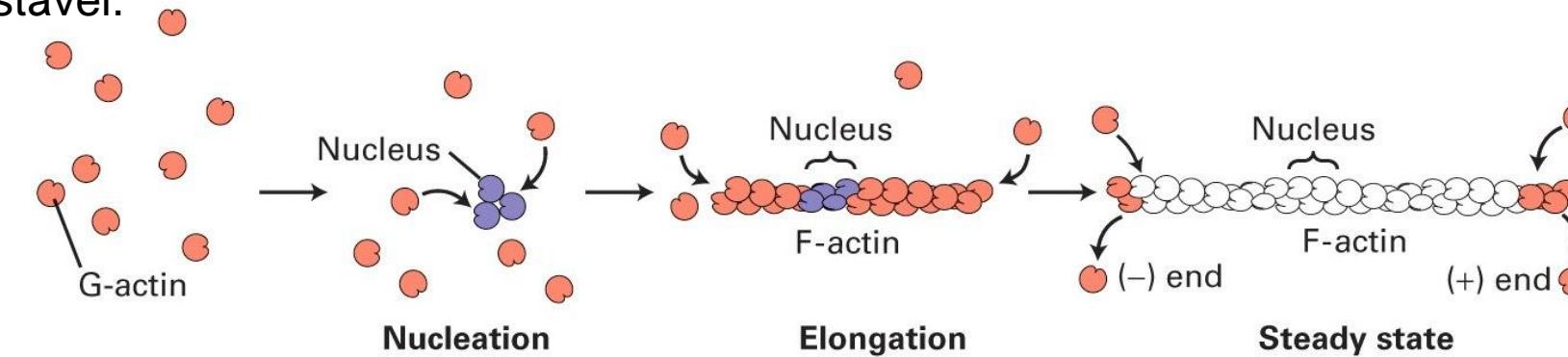
As proteína acessórias fazem o crosslink e juntam vários filamentos de actina tornando-os estruturas mais robustas.



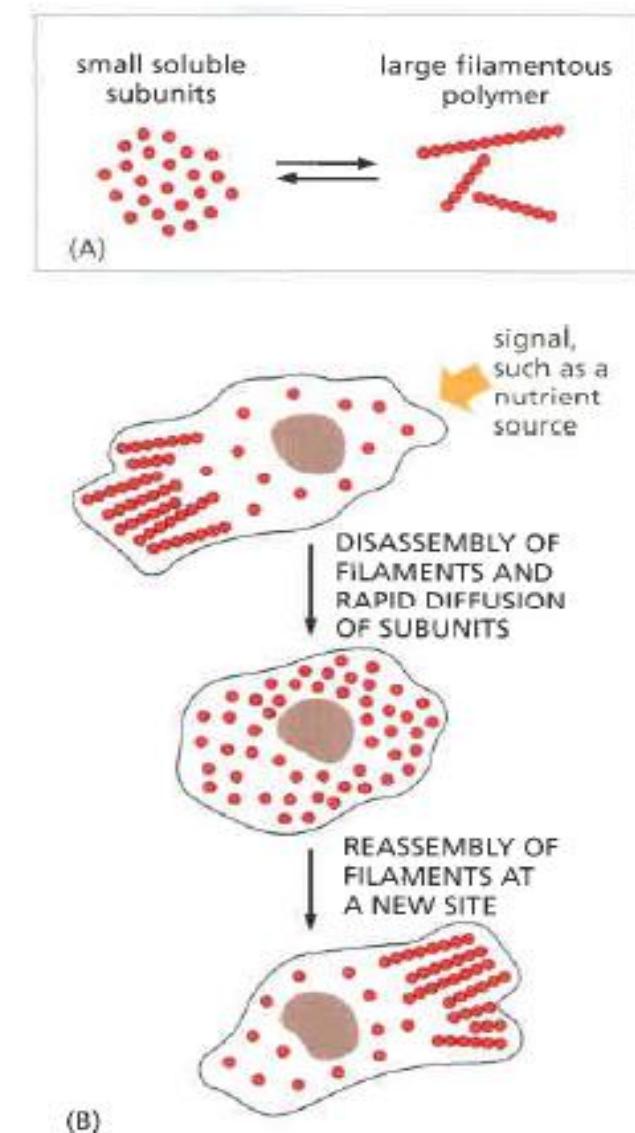
## Polimerização da G-actina

Pequenos oligômeros compostos por poucas subunidades podem-se juntar espontaneamente, mas são instáveis – **nucleação** (existe uma barreira cinética a ultrapassar).

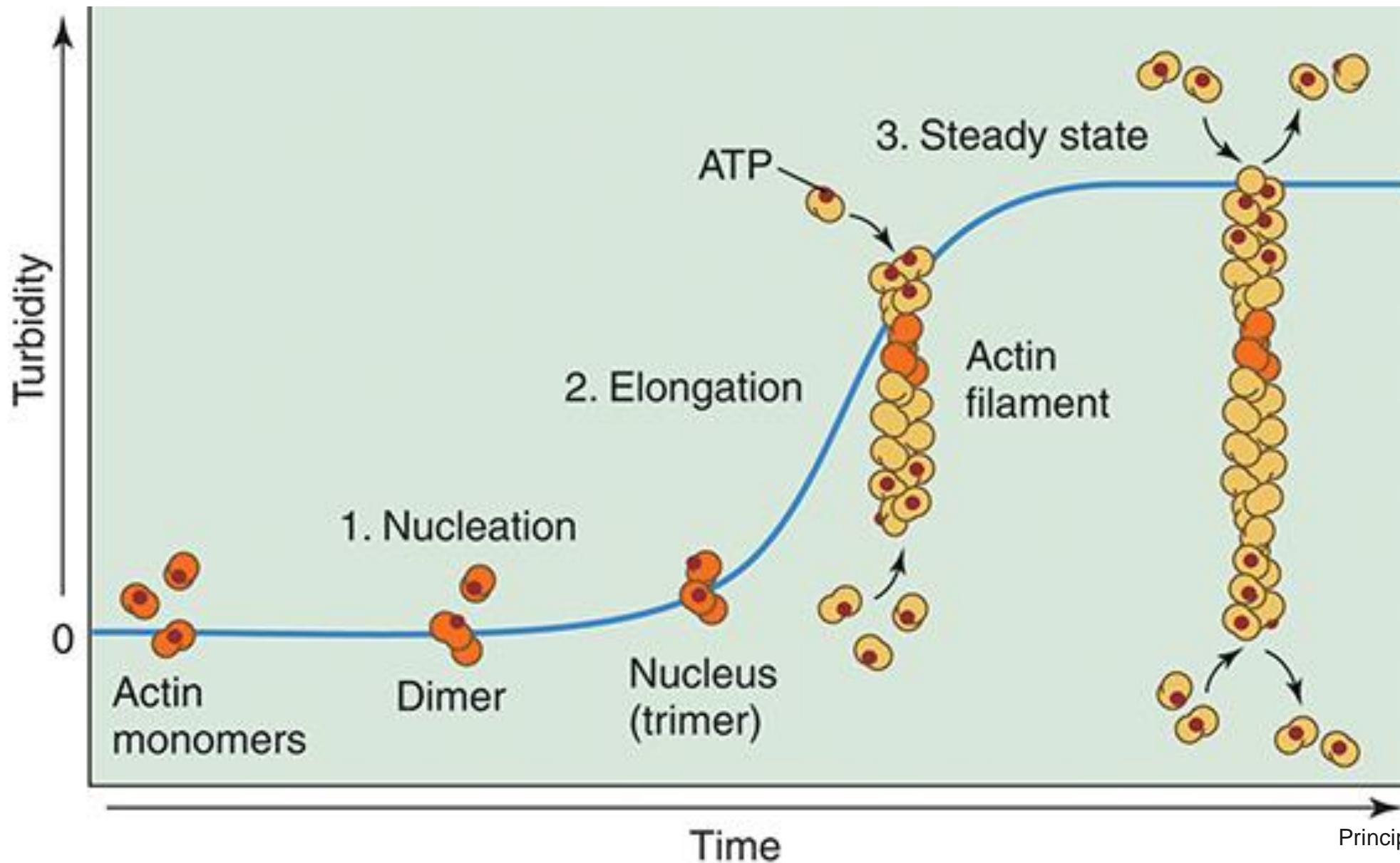
Depois da formação do núcleo, a **elongação** é um processo mais rápido e estável.



$C_c$  –critical concentration  
At monomer concentrations below  $C_c$ , no polymerization takes place. At monomer concentrations above the  $C_c$ , filaments assemble until the monomer concentration reaches  $C_c$ .



# The three stages of actin filament assembly *in vitro*

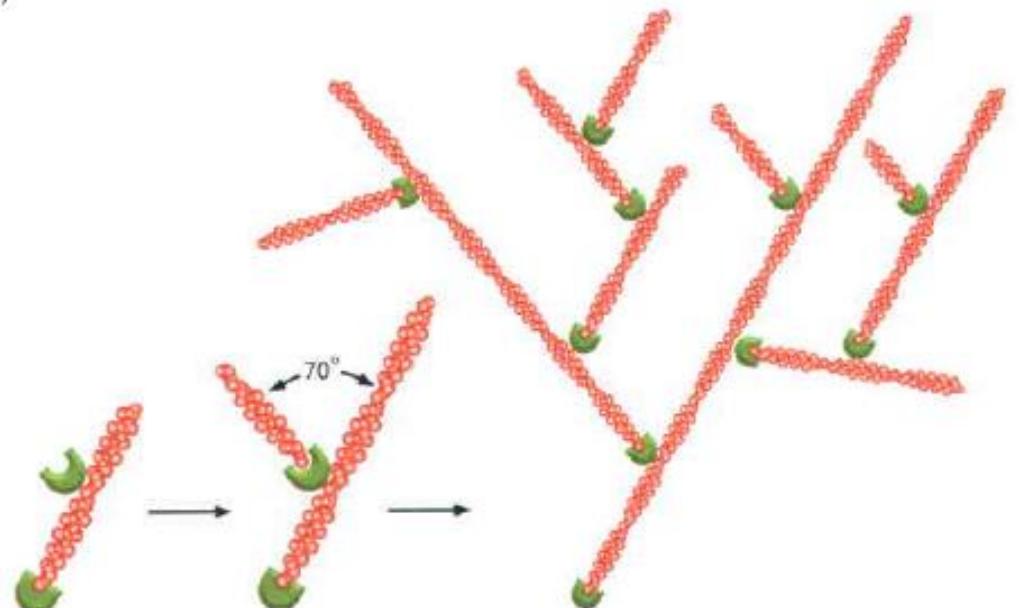
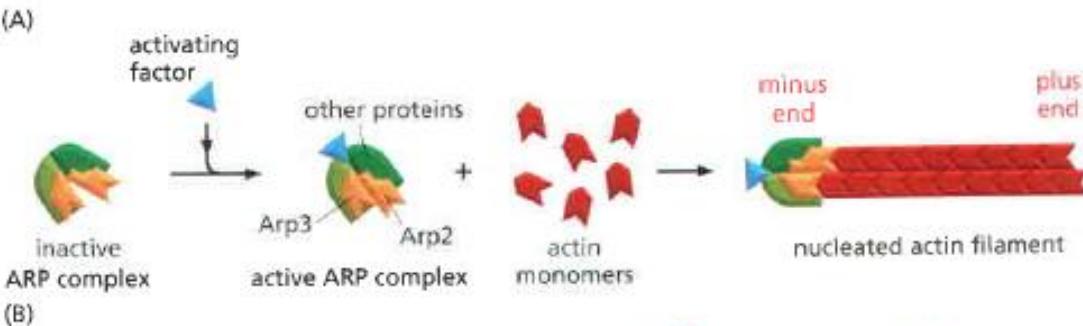


## Nucleação de filamentos de actina

Ao contrário dos microtúbulos, a nucleação dos filamentos de actina geralmente ocorre perto da membrana plasmática. Assim, a maior concentração de filamentos de actina está na **periferia da célula**.

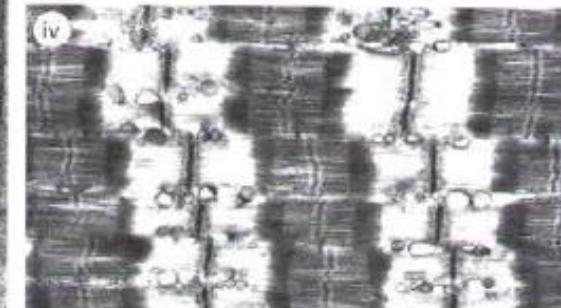
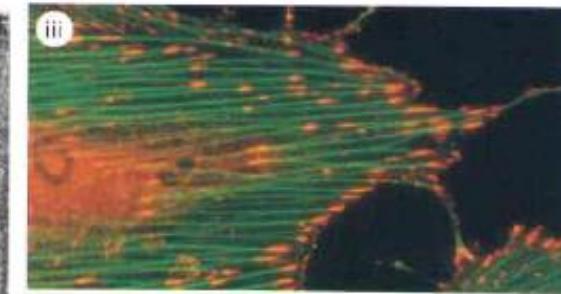
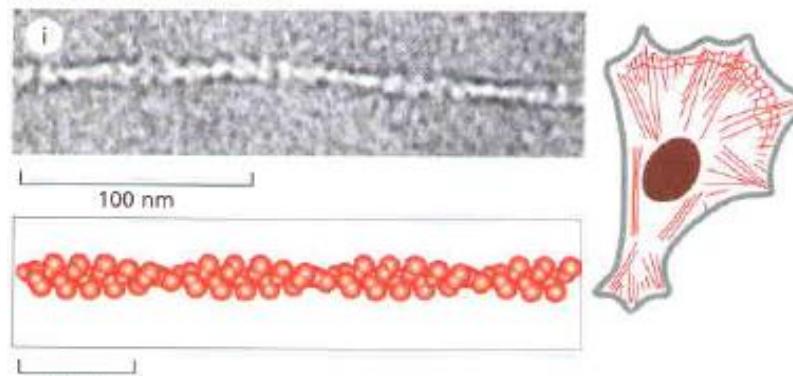
Frequentemente são sinalis externos que regulam a nucleação de filamentos de actina na membrana plasmática, permitindo que a **célula altere a sua forma** muito rapidamente.

A nucleação é catalizada por 2 tipos diferentes de factores,, the **complexo ARP e forminas**.

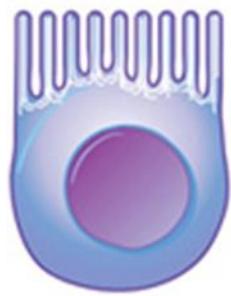


Os **filamentos de actina** envolvem internamente a membrana plasmática das células animais, proporcionando **resistência e forma** à sua bicamada lipídica delicada e fluída.

#### ACTIN FILAMENTS



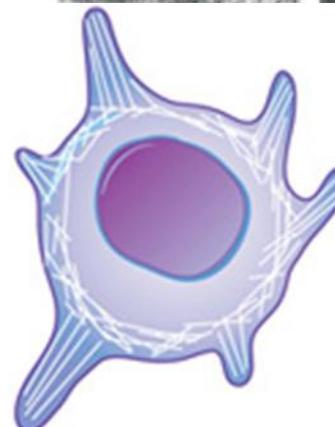
Alberts et al. **Molecular Biology of the Cell** 5th Ed



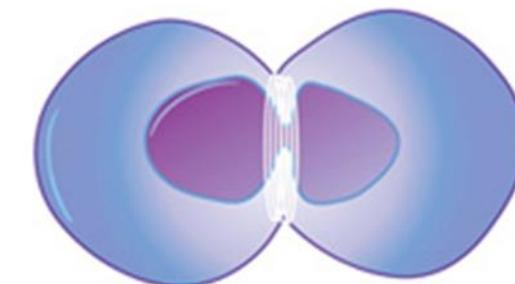
Microvilli



Cytoplasmic  
contractile  
bundles



Lamellipodia  
and filopodia



Cell division  
contractile ring

Outras estruturas formadas pelos filamentos de actina:

- Projeções da superfície celular
- Anél contráctil nas células em divisão
- Microvilusidades nas células epiteliais do intestino

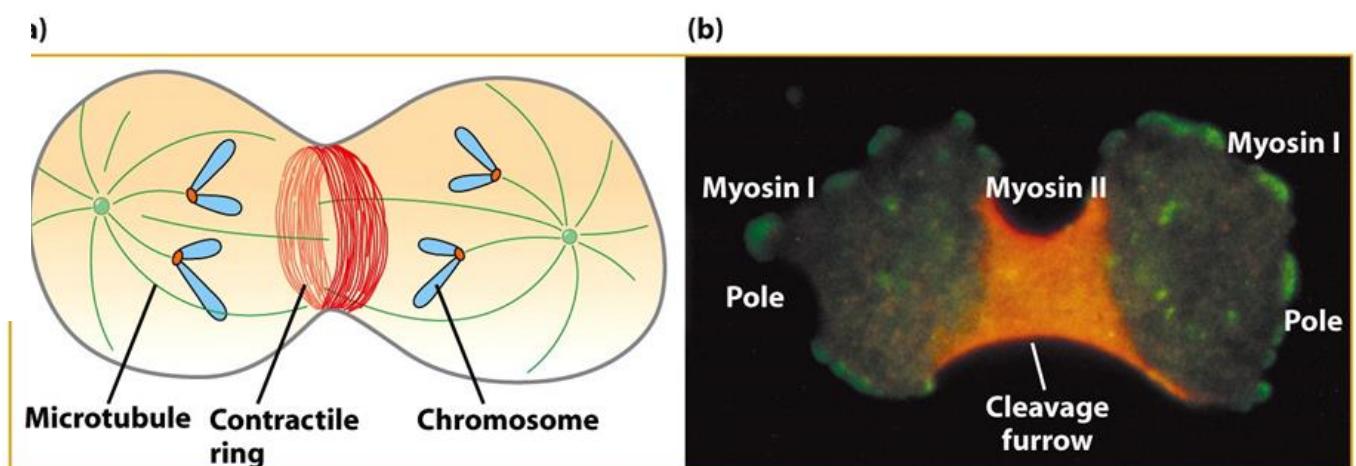
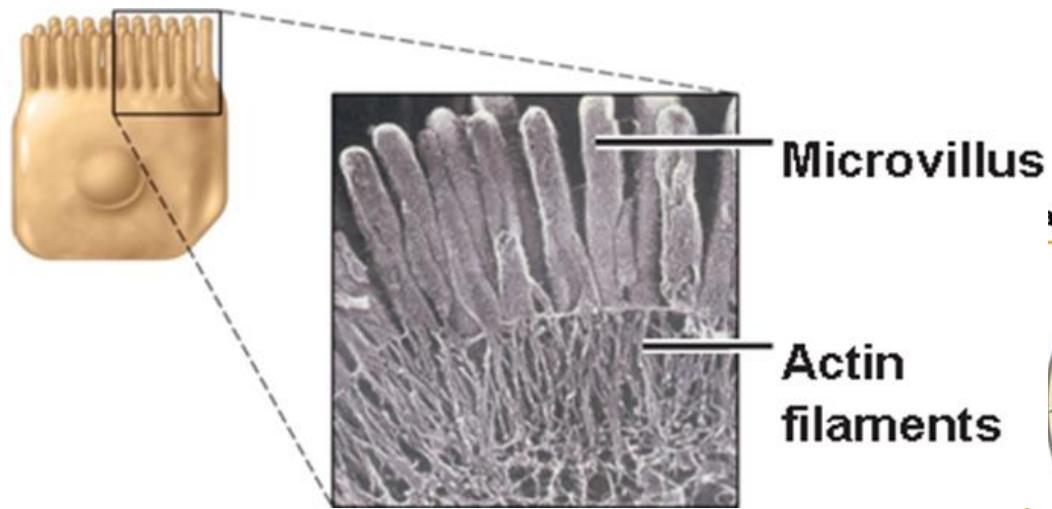
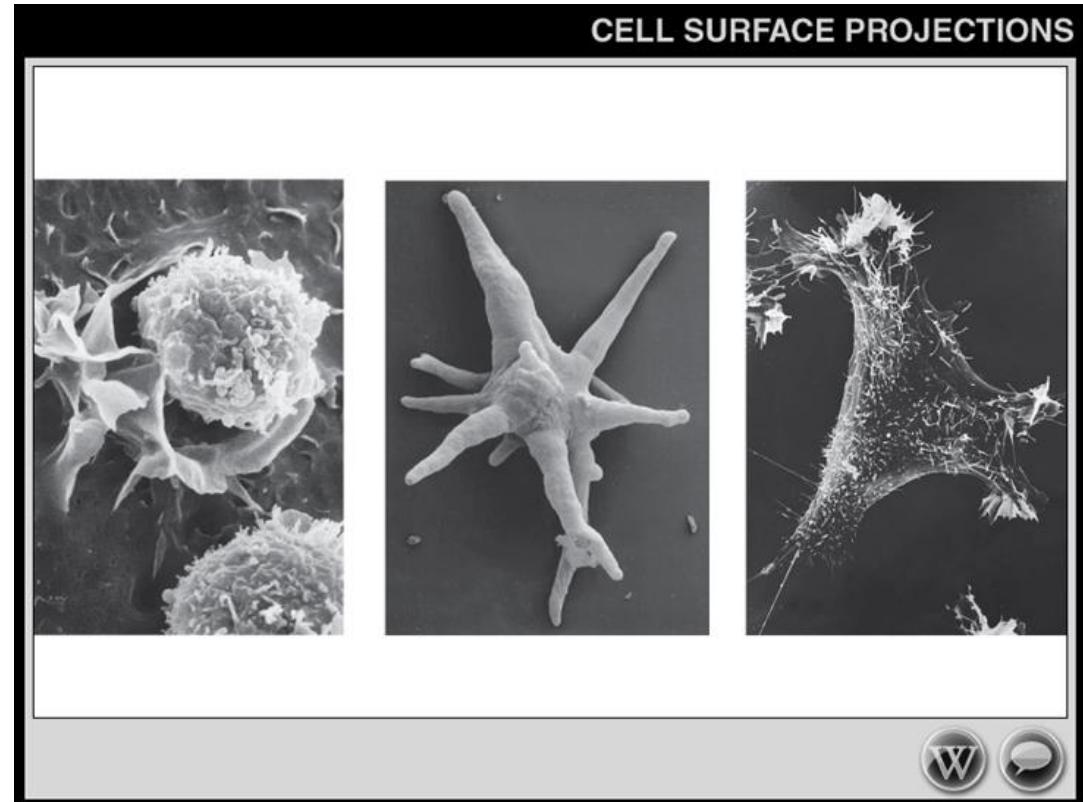
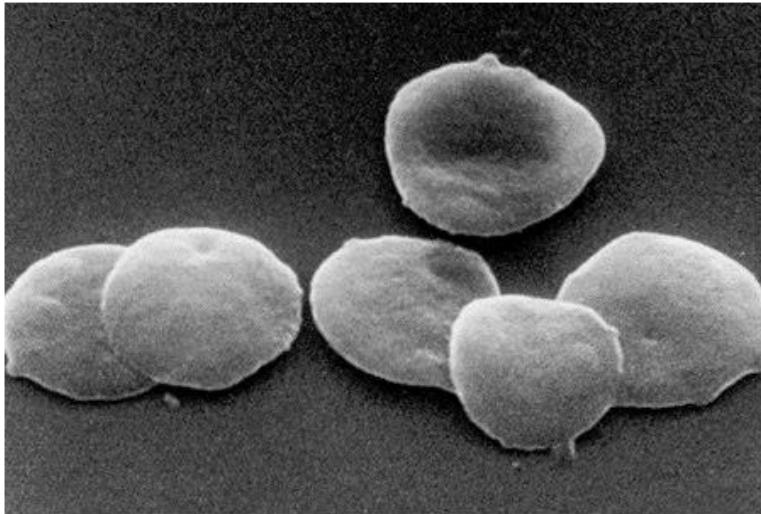


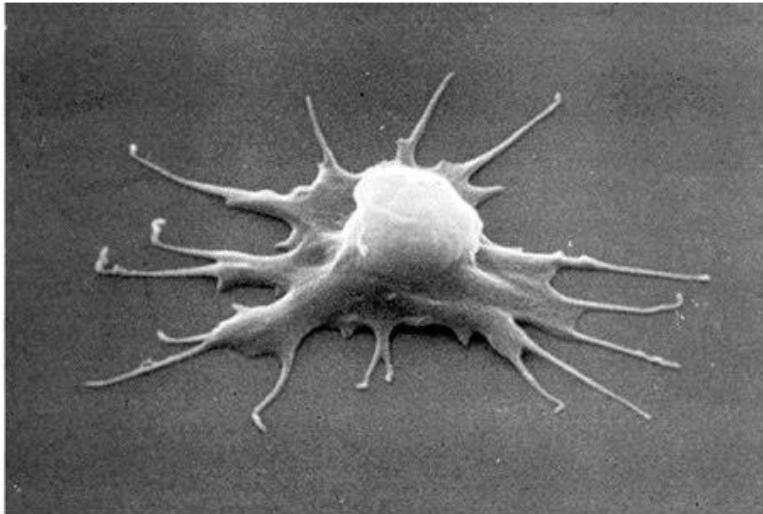
Figure 17-34  
Molecular Cell Biology, Sixth Edition  
© 2008 W.H. Freeman and Company



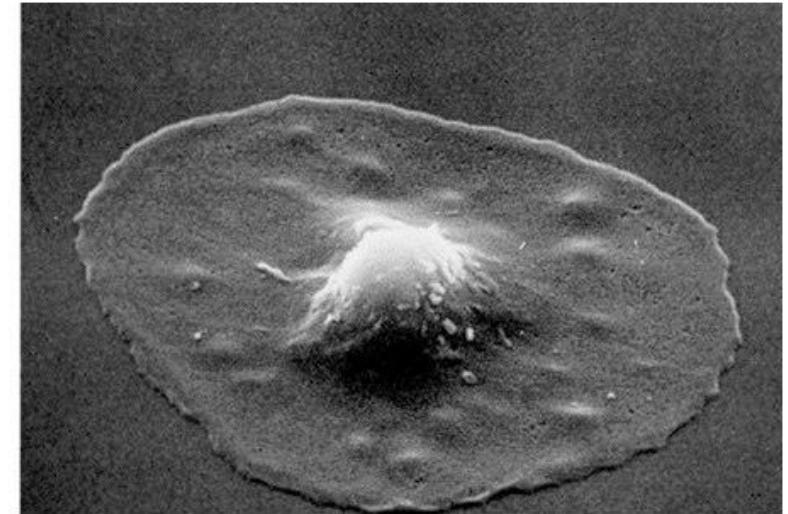
## As plaquetas mudam de forma durante a coagulação do sangue



Discoid shape



Filopodia



Spread out

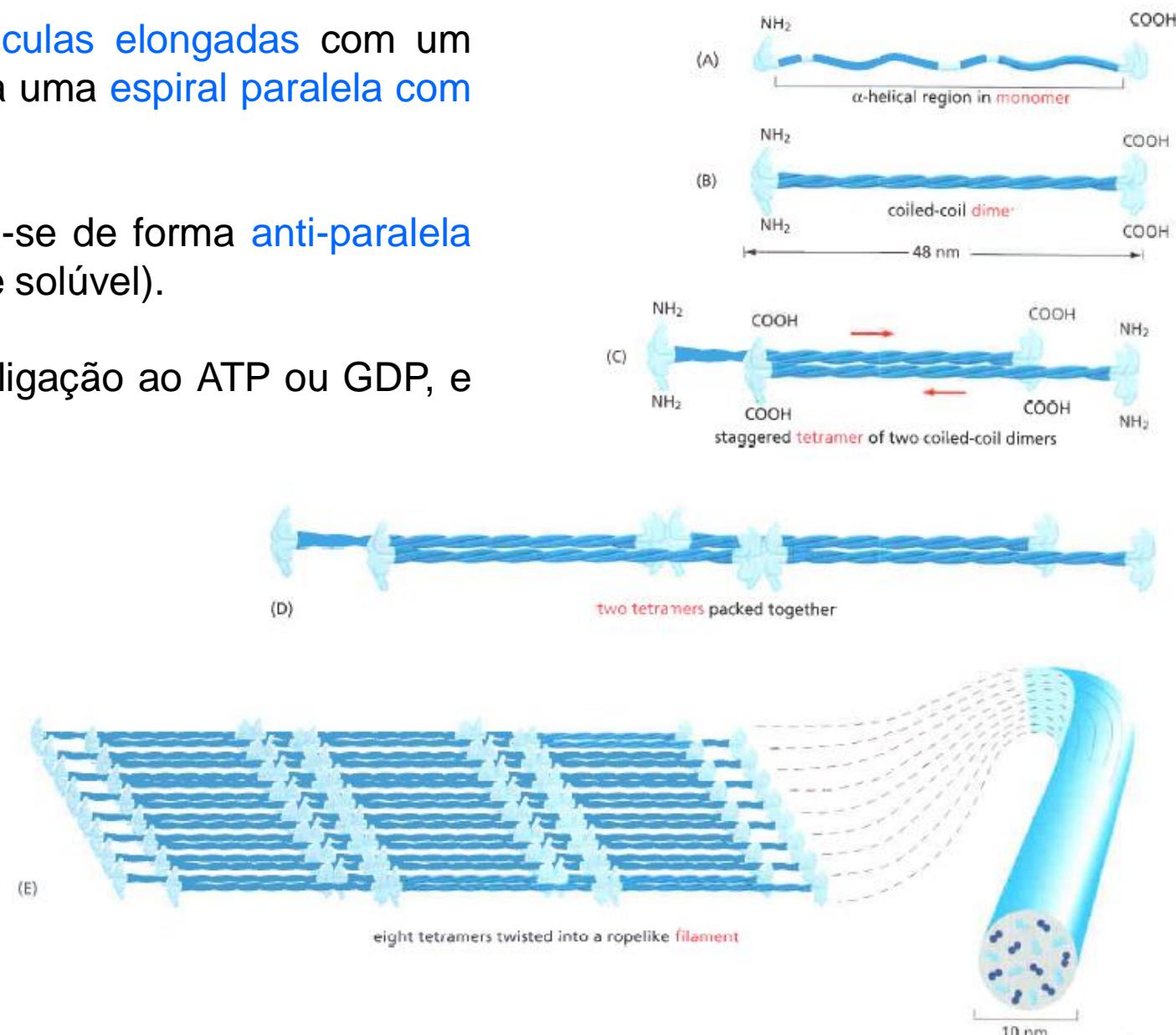
As alterações na morfologia resultam de rearranjos complexos do citoesqueleto de actina, que está intimamente associado (“cross-linked”) à membrana plasmática

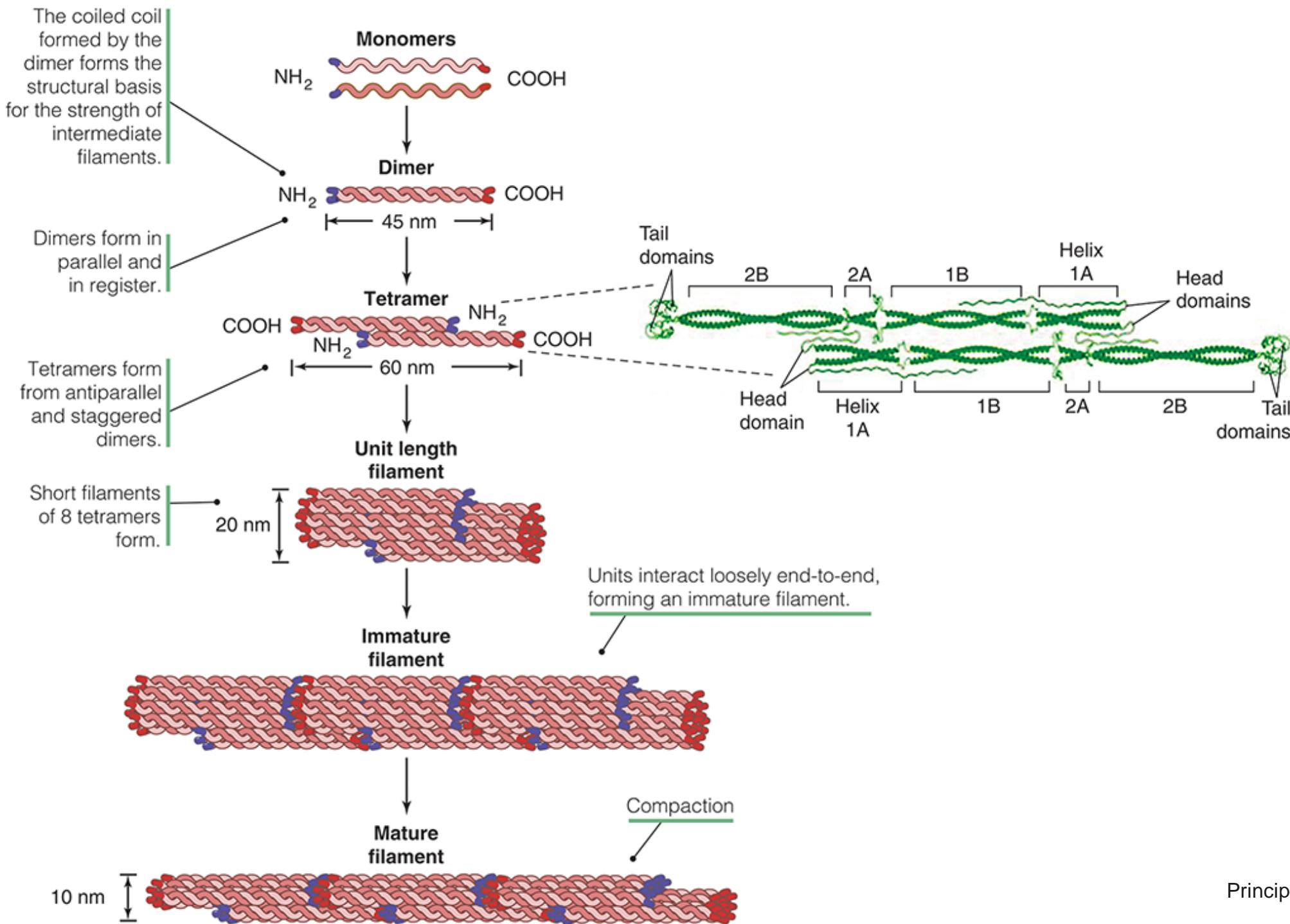
## Filamentos intermédios

Os polipéptidos individuais são moléculas elongadas com um domínio central em  $\alpha$ -hélice que forma uma espiral paralela com outro monómero.

Um par de **dímeros paralelos** associa-se de forma **anti-paralela** para formar um **tetrâmero** (subunidade solúvel).

As subunidades não contém local de ligação ao ATP ou GDP, e são estáveis.





Os 2 dímeros de tetrâmero apontam em direções opostas – as suas extremidades são iguais – ausência de polaridade.

Cada filamento intermédio individual tem uma secção com 32 α-hélices individuais.

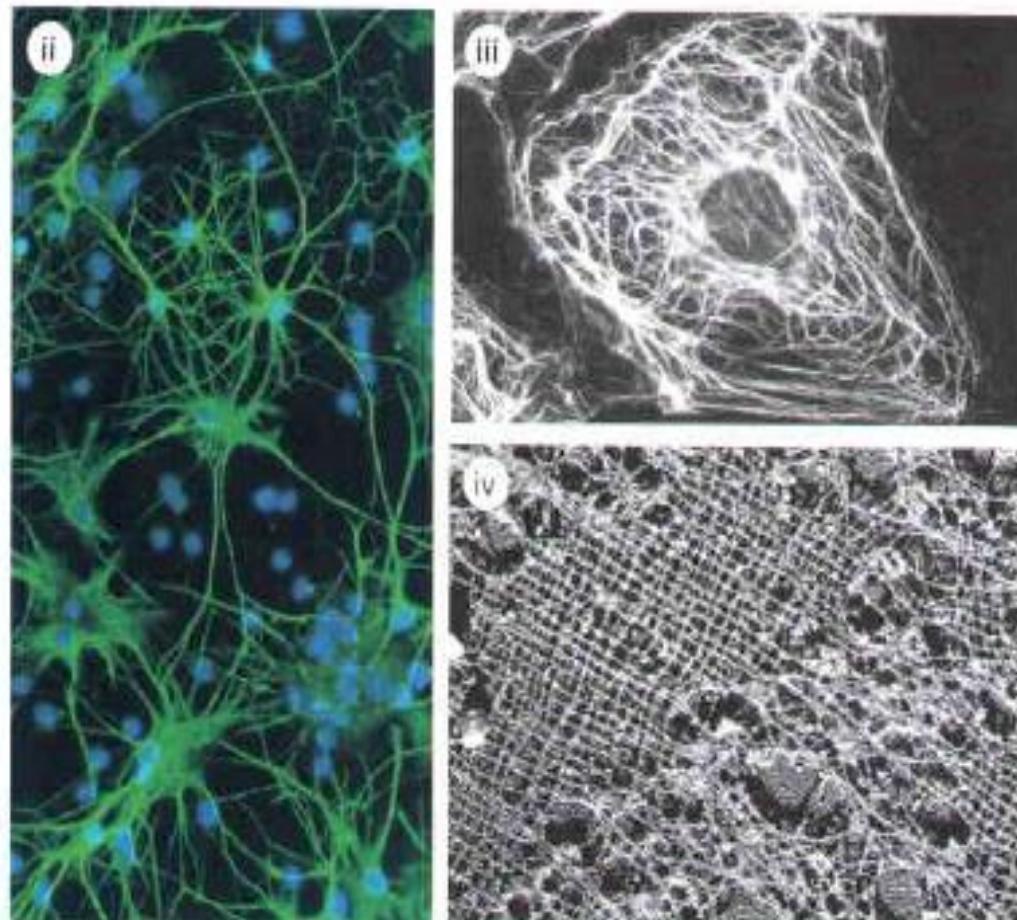
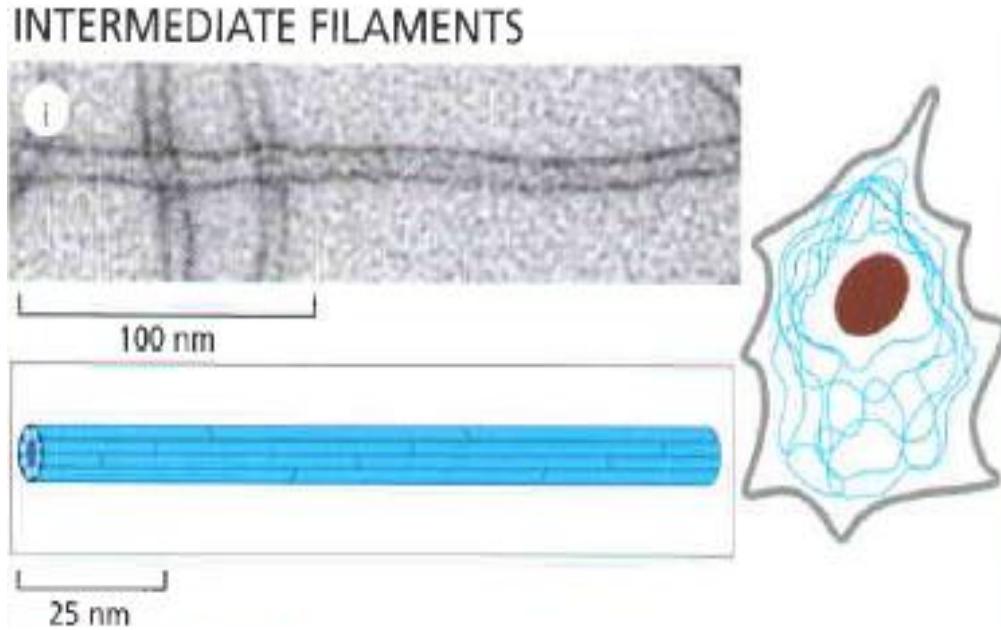
O mecanismo de polimerização e despolimerização é menos bem conhecido..

Table 16–1 Major Types of Intermediate Filament Proteins in Vertebrate Cells

TYPES OF IF	COMPONENT POLYPEPTIDES	LOCATION
Nuclear	lamins A, B, and C	nuclear lamina (inner lining of nuclear envelope)
Vimentin-like	vimentin	many cells of mesenchymal origin
	desmin	muscle
	glial fibrillary acidic protein	glial cells (astrocytes and some Schwann cells)
Epithelial	peripherin	some neurons
	type I keratins (acidic) type II keratins (basic)	epithelial cells and their derivatives (e.g., hair and nails)
Axonal	neurofilament proteins (NF-L, NF-M, and NF-H)	neurons

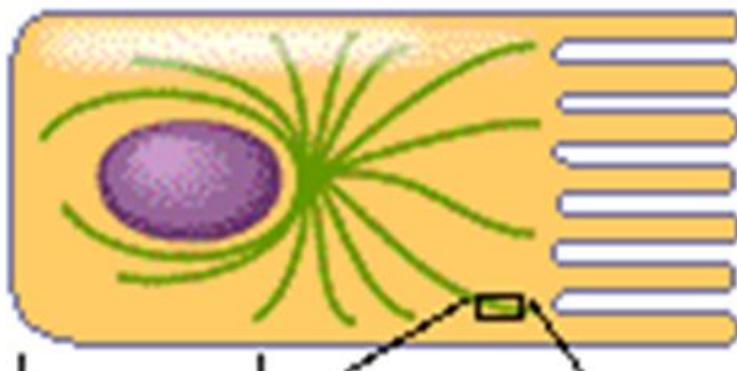
Filamentos intermédios alinham-se com a face interna do envelope nuclear, formando uma “gaiola protectora” para o DNA da célula.

No citosol, eles são **torcidos em cabos fortes** que podem sustar camadas de células epiteliais ou permitir que os neurónios estendam longos axónios.

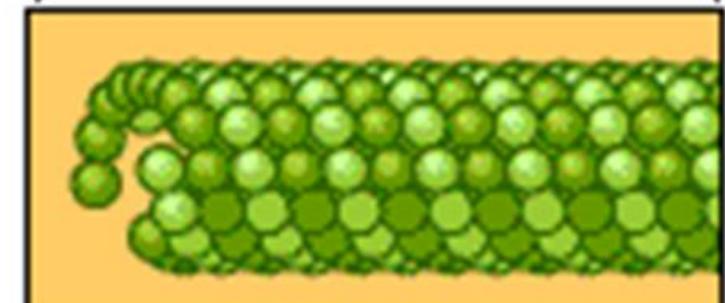


## Resumo

Microtubules



25 μm

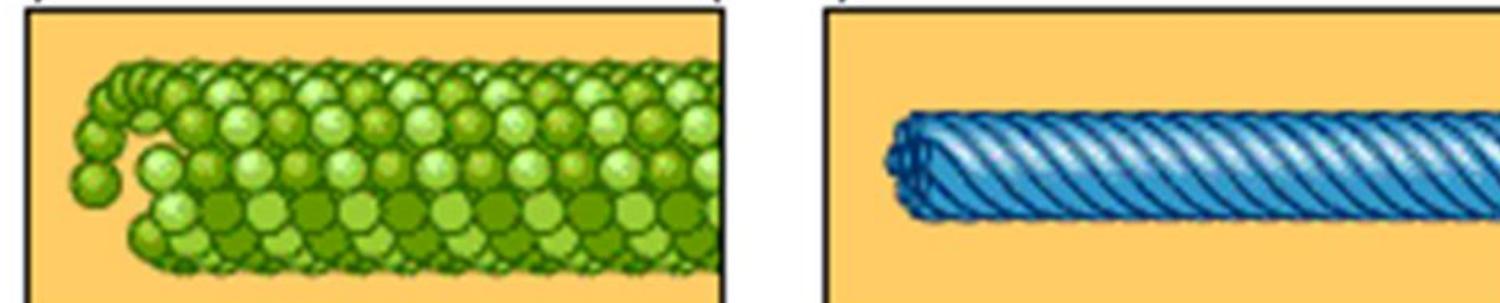


25nm

Intermediate filaments

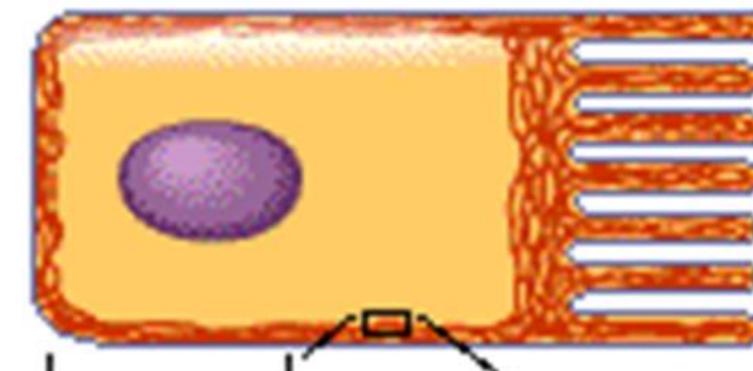


25 μm

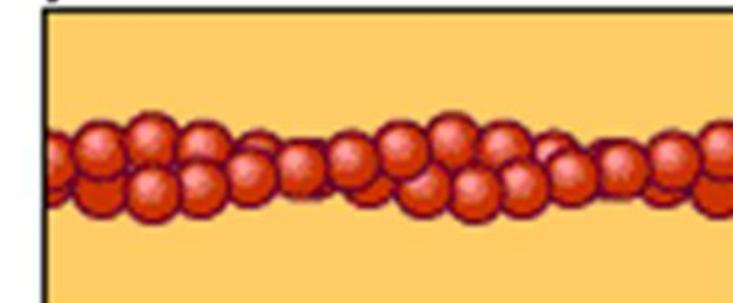


25nm

Microfilaments



25 μm



25nm

## Proteínas motoras

As proteínas motoras ligam-se a um filamento do citoesqueleto polarizado e usam a energia resultante da hidrólise do ATP para se movimentarem ao longo do filamento.

Numa célula eucariota co-existem dezenas de proteínas motoras diferentes.

As proteínas motoras diferem no tipo de filamento ao qual se ligam (actina ou microtúbulos), e a direção para a qual se movimentam bem como à carga que carregam.

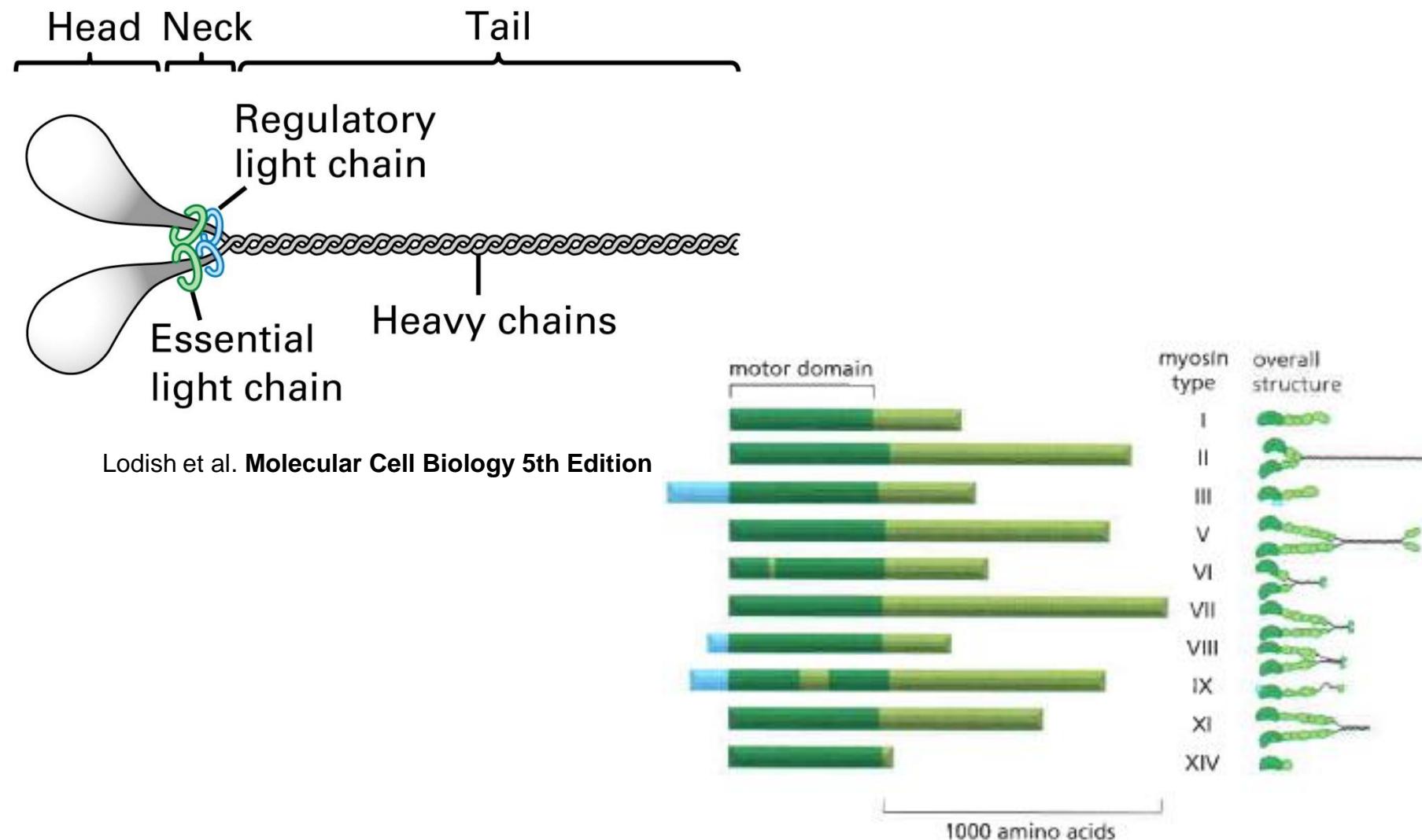
Muitas destas proteínas carregam organelos envolvidos por membrana (mitocôndrias, Golgi, vesículas de secreção, etc) para as suas localizações apropriadas na célula.

Outras fazem com que os filamentos do citoesqueleto exerçam tensão ou deslizem uns sobre os outros, gerando a força necessária para a contração muscular, bater dos cílios e flagelos e divisão celular.

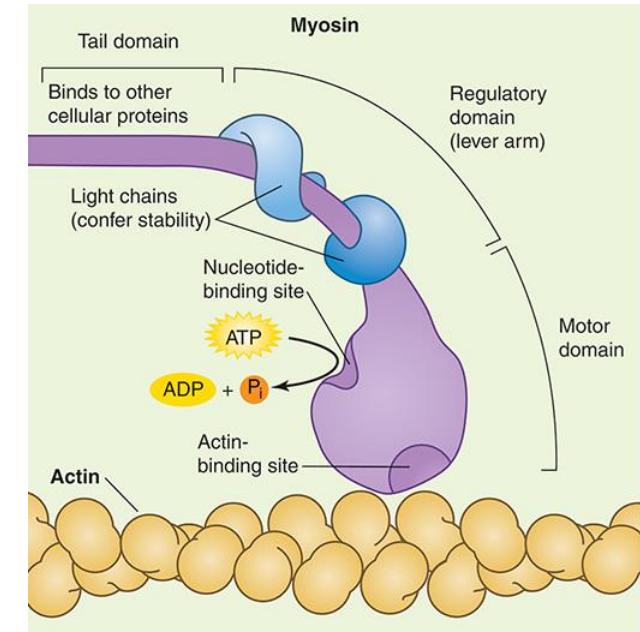
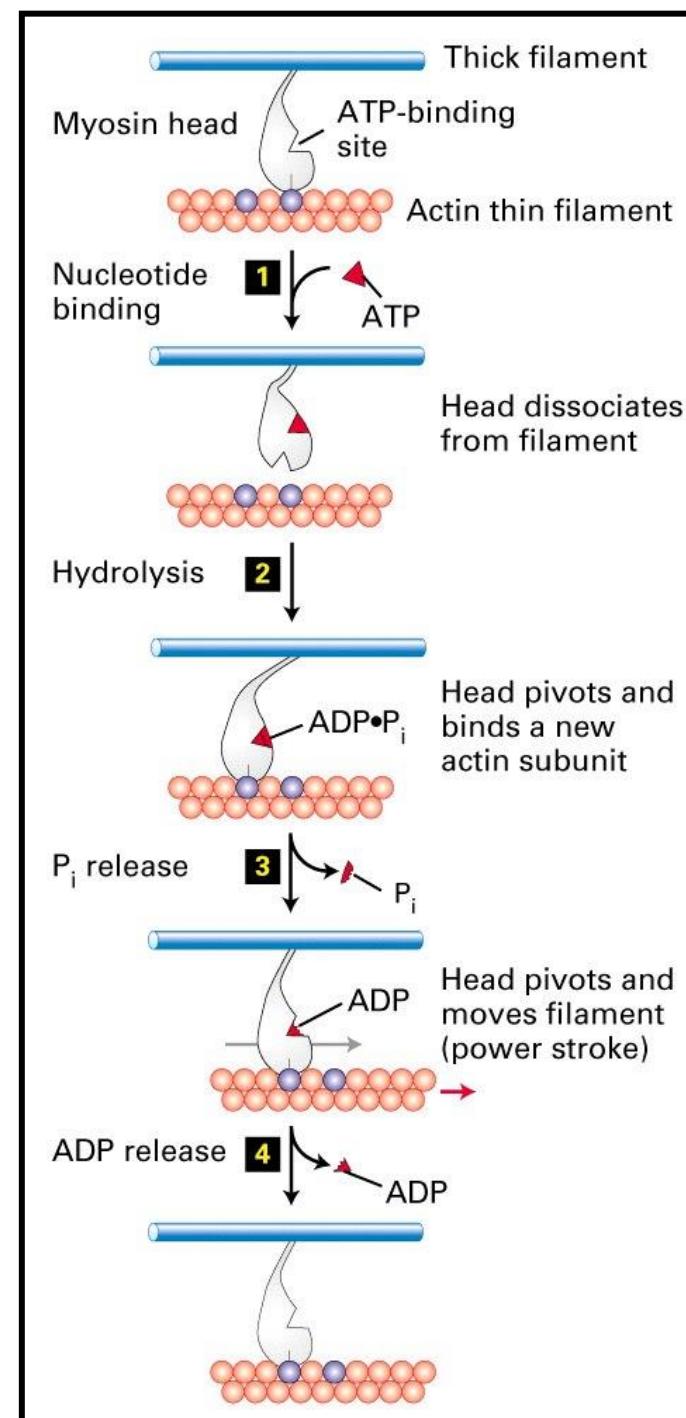
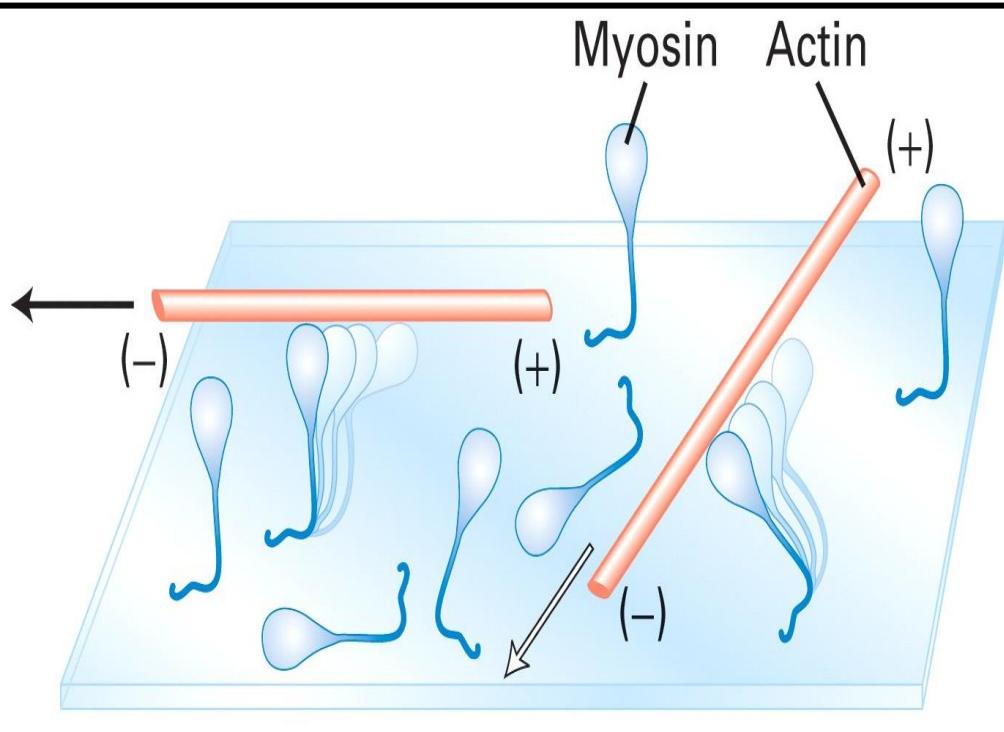
As proteínas motoras associam-se aos filamentos (que servem como vias) através da região designada por “cabeça” (domínio motor) que se liga e hidroliza o ATP.

## Proteínas motoras dos filamentos de actina

### (a) Myosin II



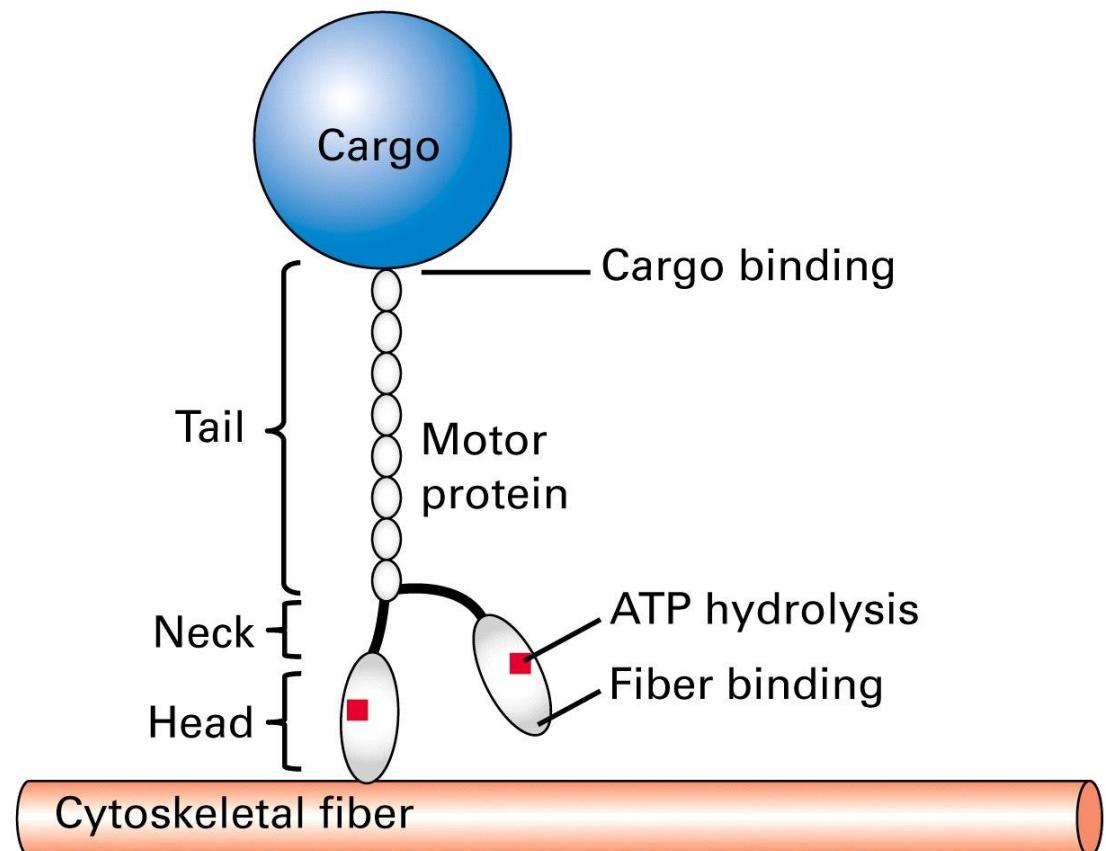
# Modelo operacional de associação da hidrólise de ATP ao movimento da miosina ao longo dum microfilamento de actina



Principles of Cell Biology

## Proteínas motoras dos microtúbulos

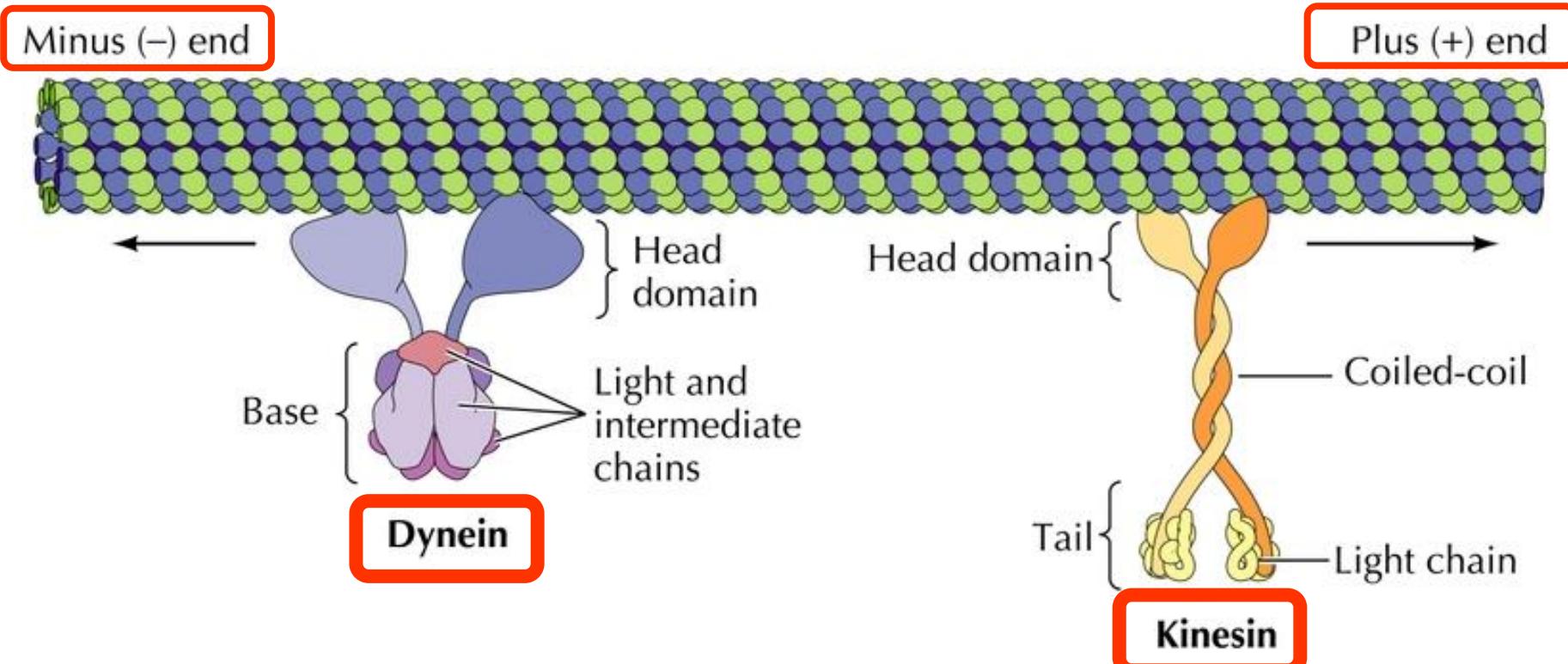
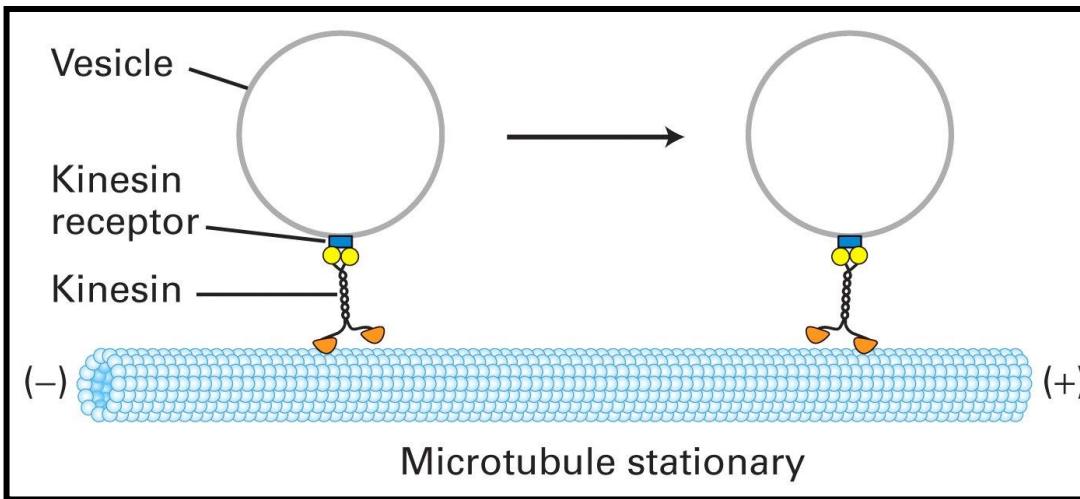
Modelo do mecanismo através do qual as proteínas motoras movimentam os organelos ao longo dos microtúbulos.

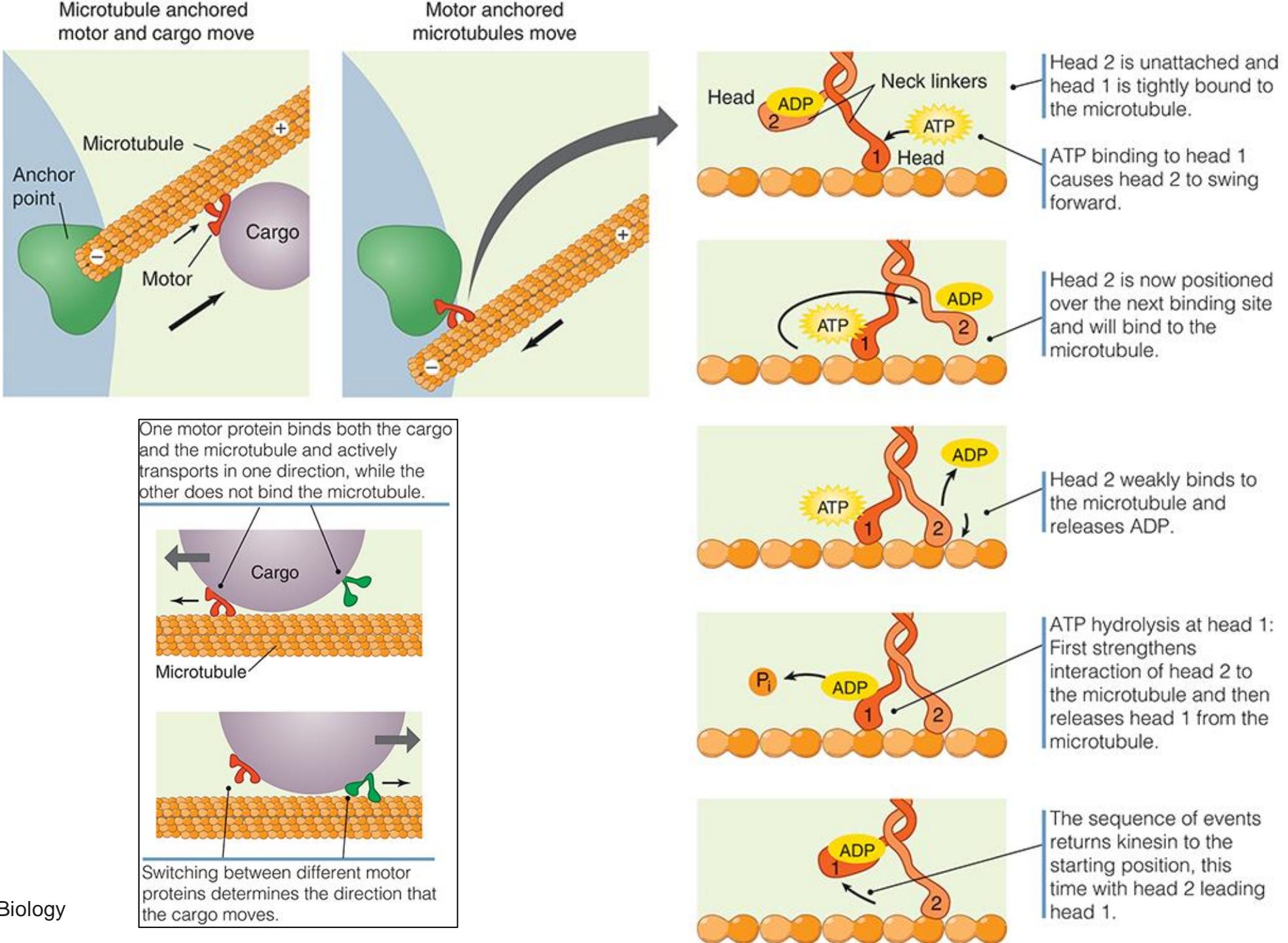


### **Características do transporte por proteínas motoras:**

- Depende de ATP
- Sensível à presença de inibidores da síntese proteíca e destabilizadores dos microtúbulos
- Mecanismo de “pára-arranca”:
  - Dissociação periódica do organelo
  - Colisão com outras estruturas

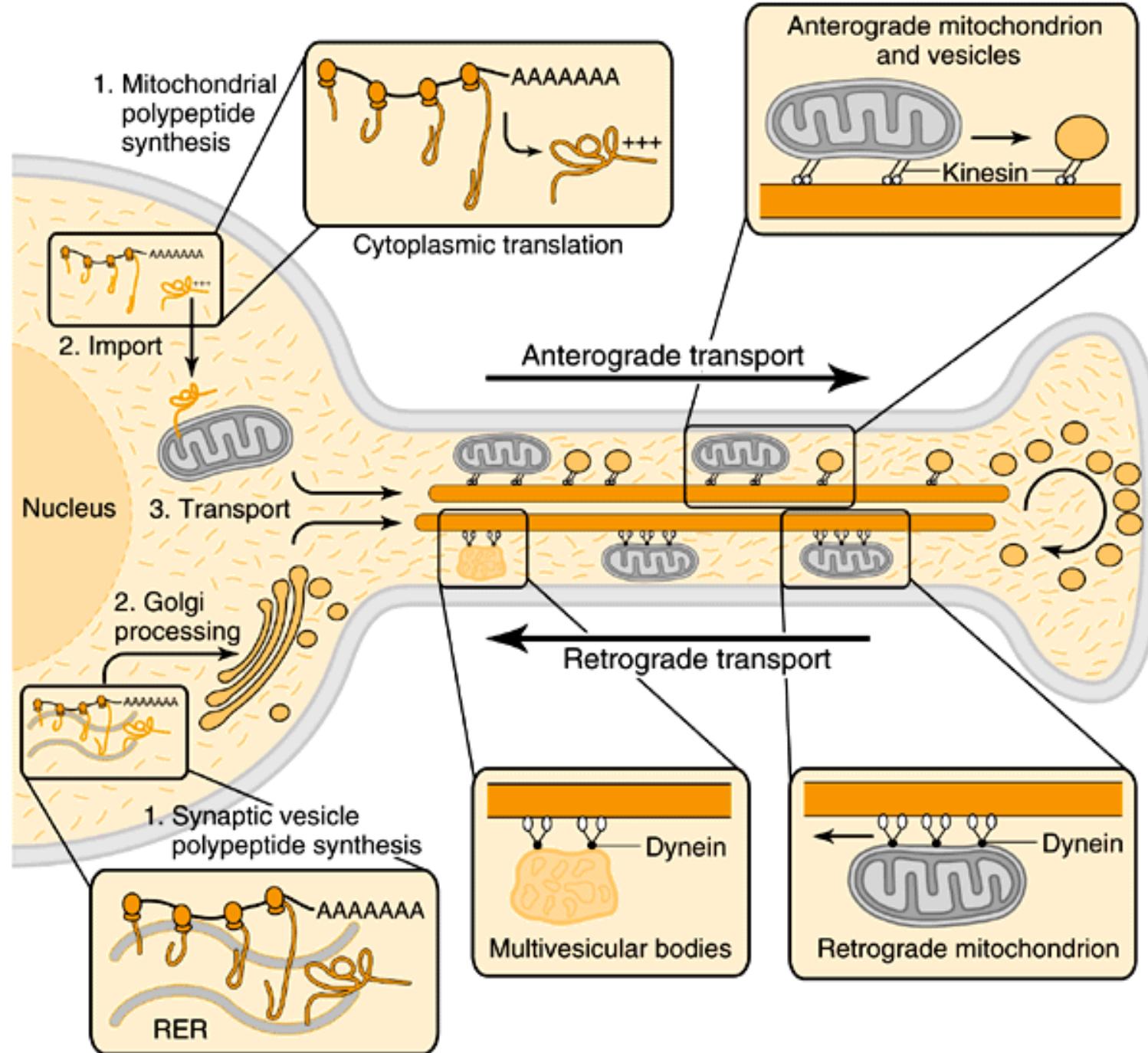
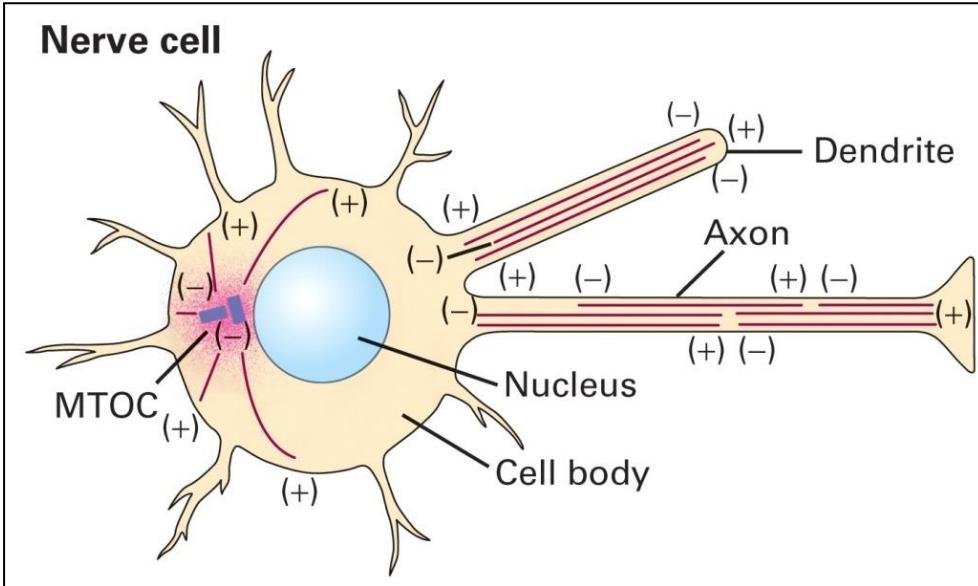
## Modelo de transporte vesicular dependente de proteínas



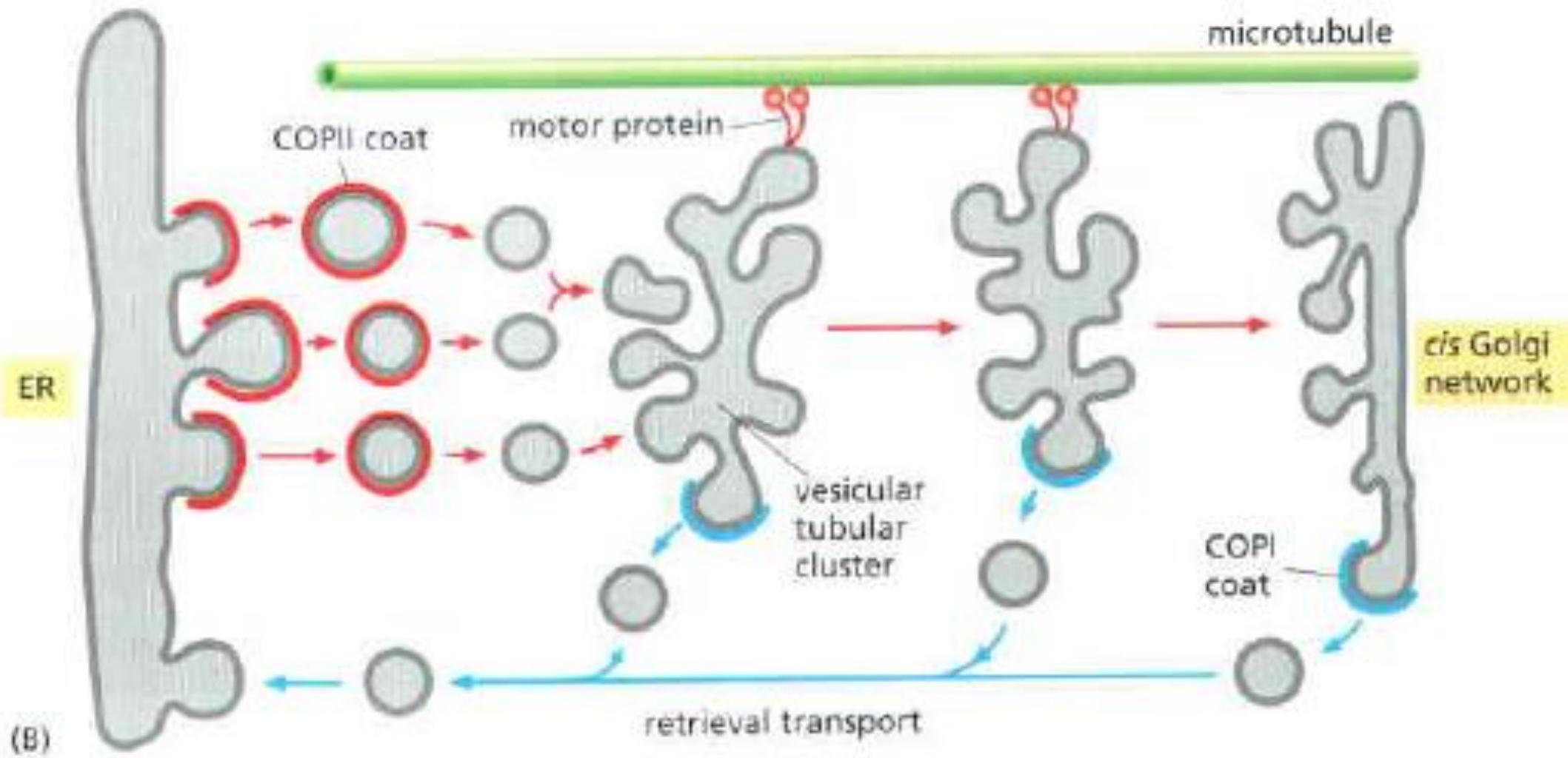


# Modelo geral de transporte mediado por cinesinas e dineínas em células neurais

In the axon the (-) ends of MTs point to the cell body;  
In dendrites MTs have mixed polarity



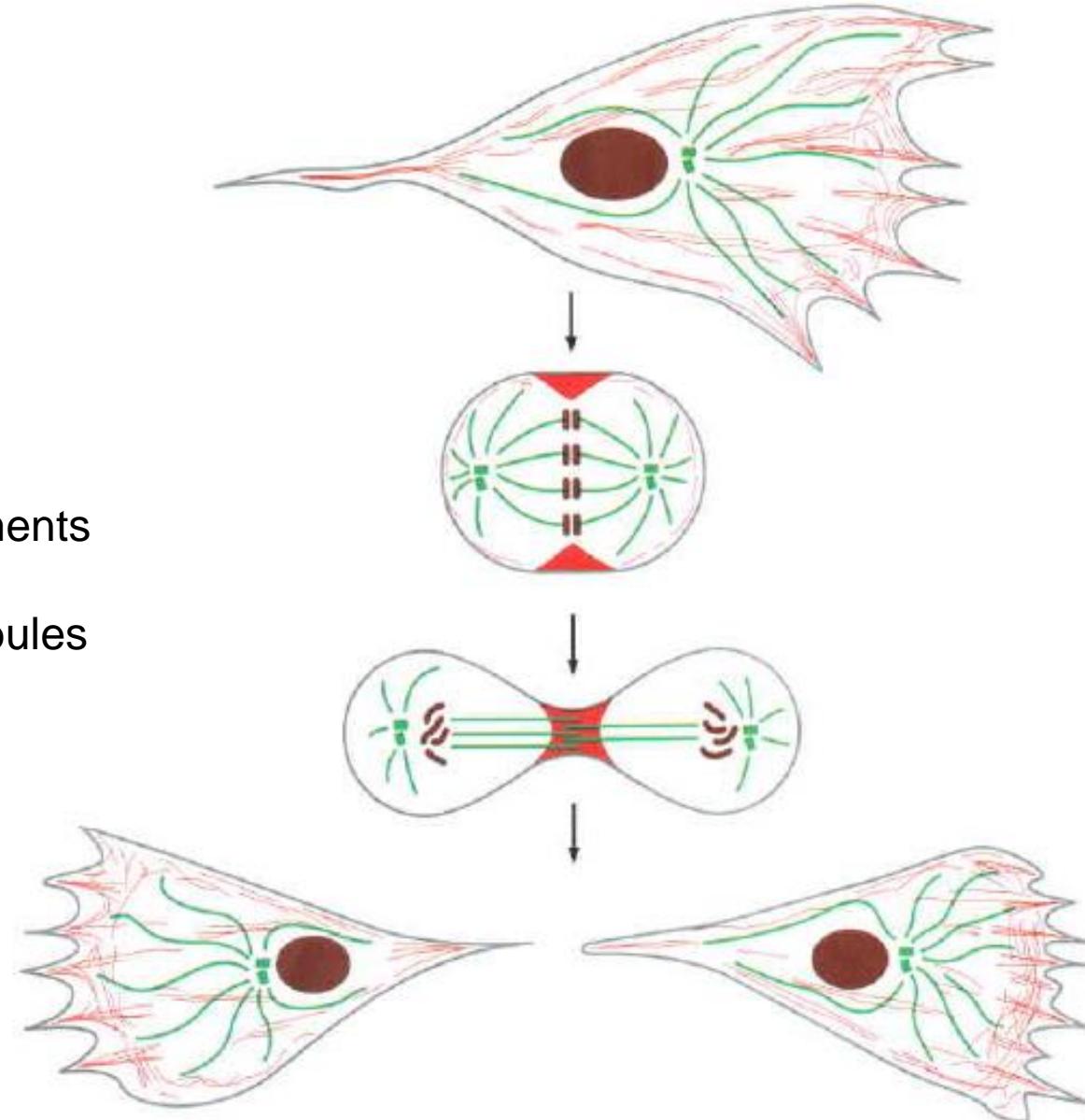
## Transporte vesicular na rede ER-Golgi



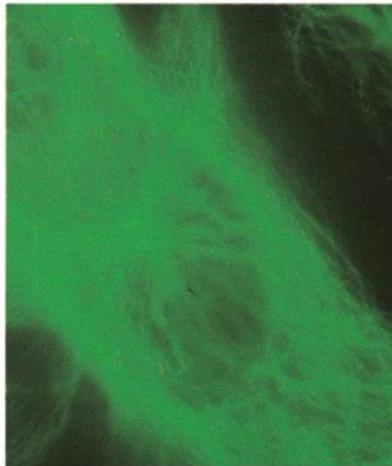
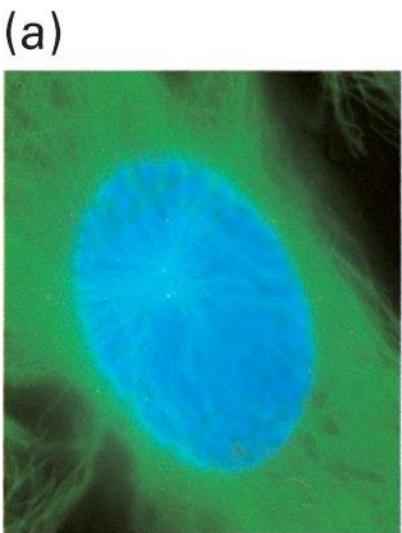
## Alterações rápidas na organização do citoesqueleto na divisão celular

Red – Actin filaments

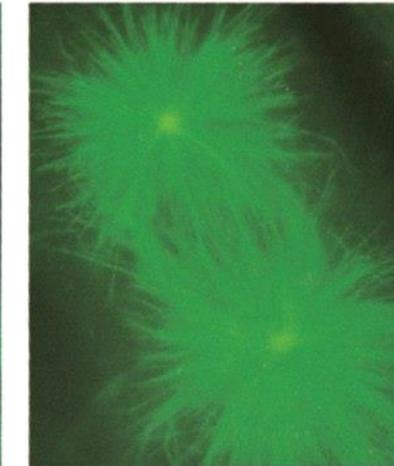
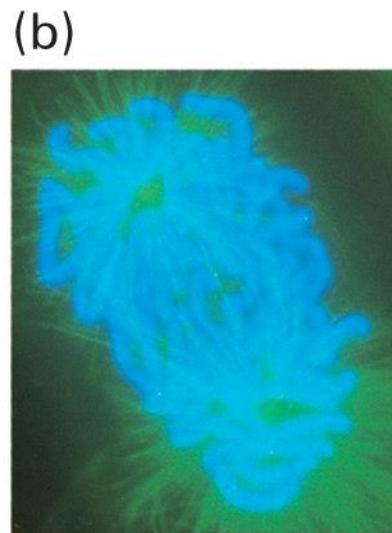
Green - Microtubules



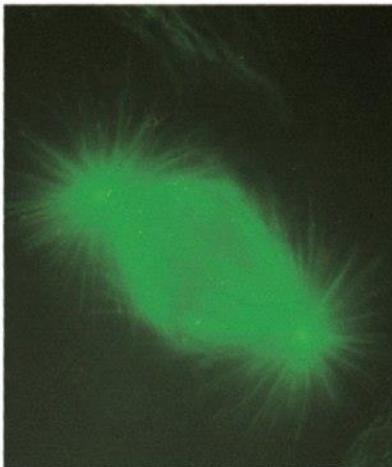
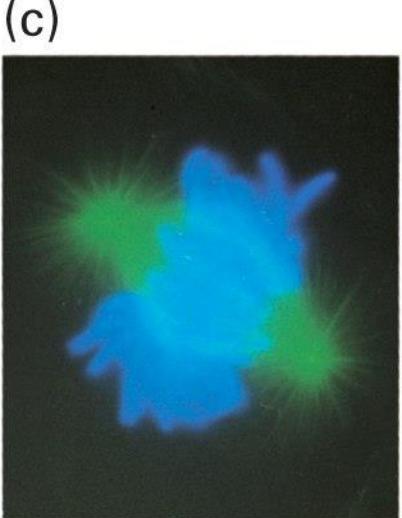
## Organização dos cromossomas e dos microtúbulos nas 4 fases da mitose



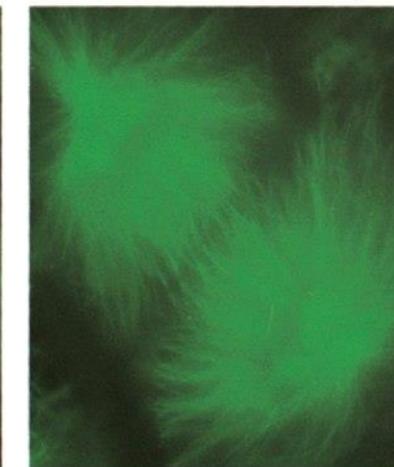
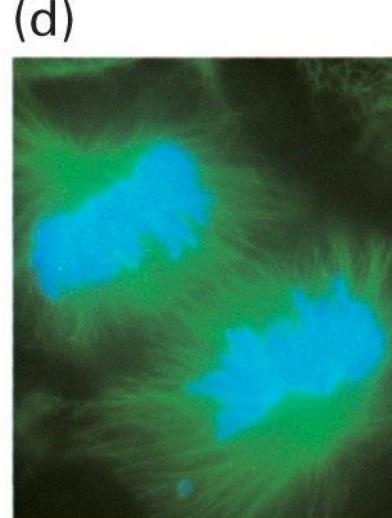
**Early prophase**



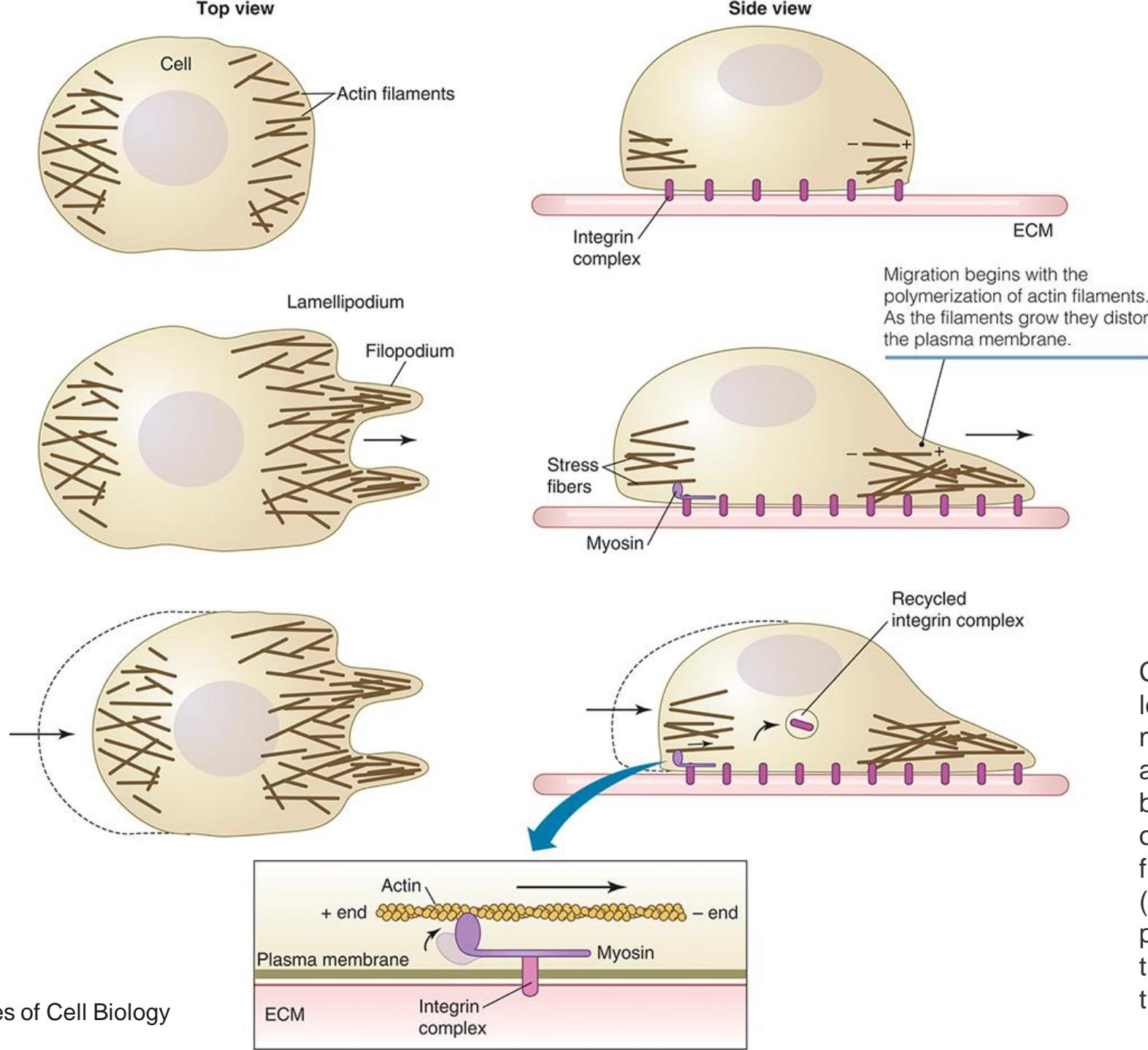
**Prometaphase**



**Metaphase**

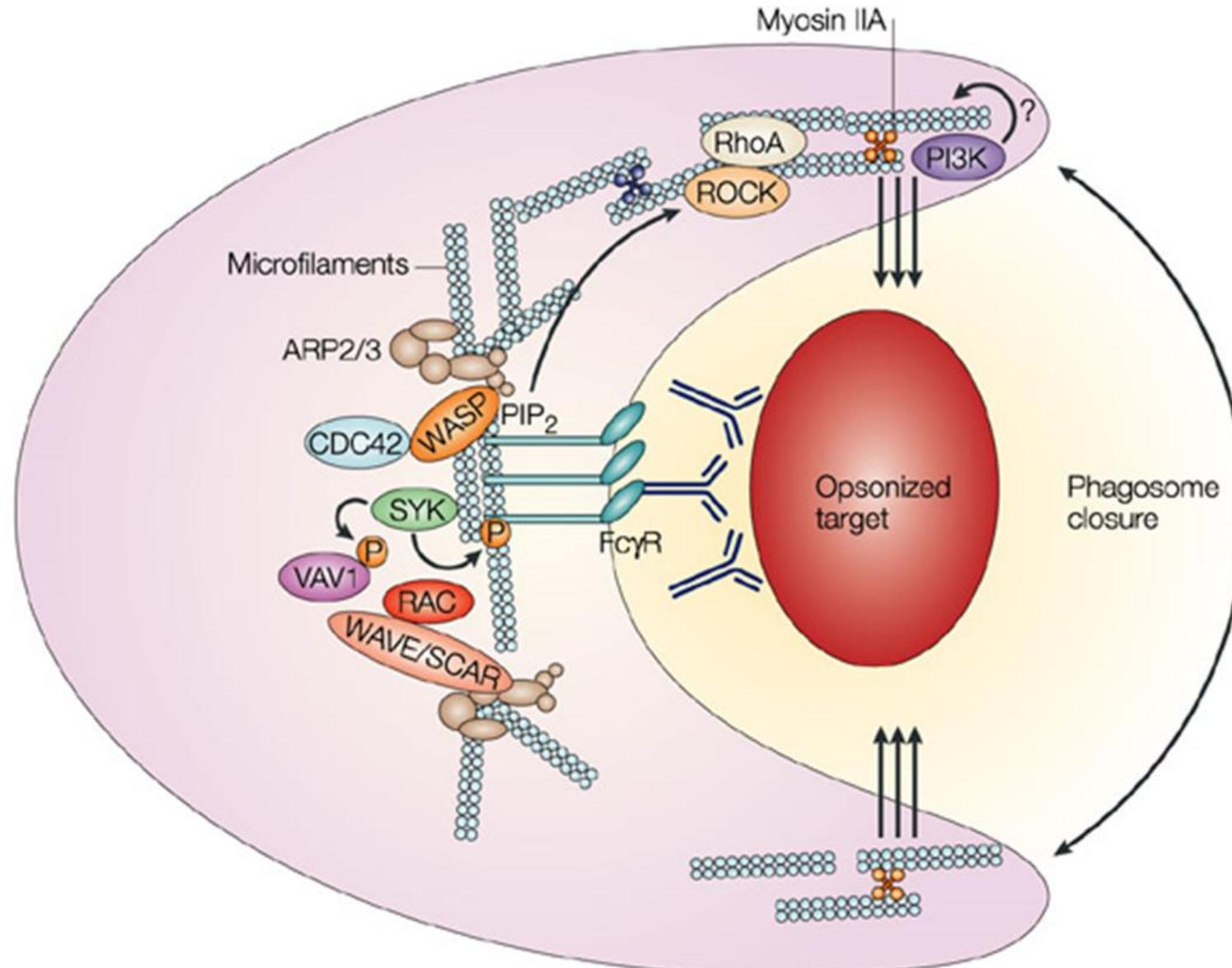


**Anaphase**

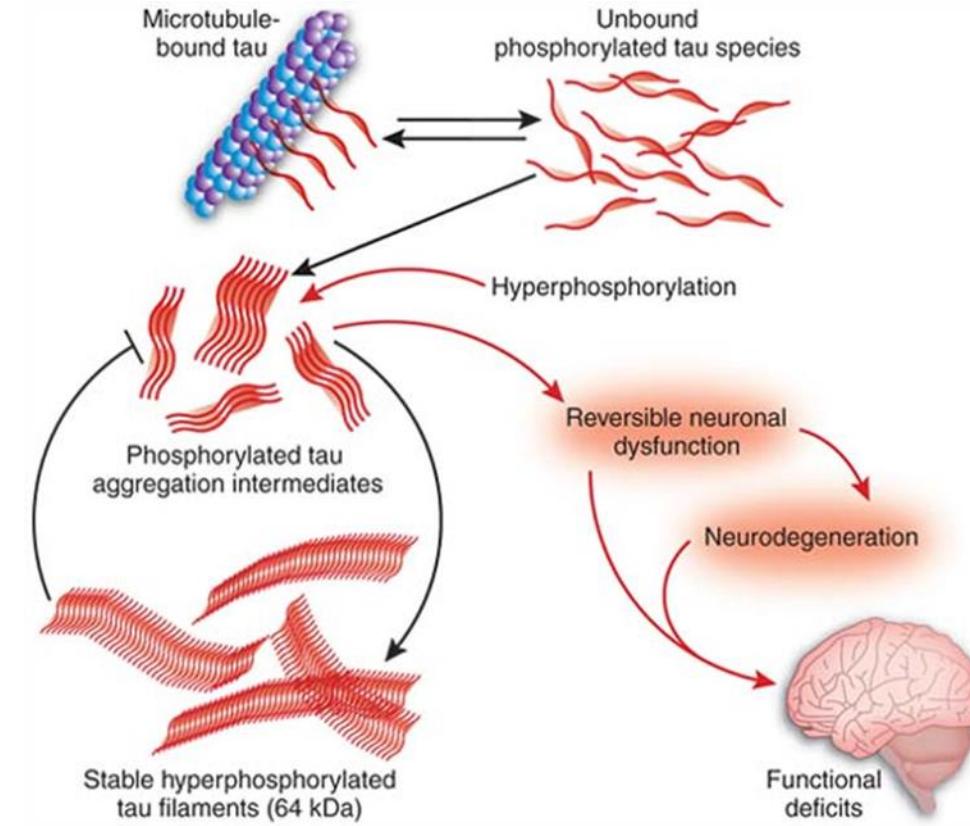
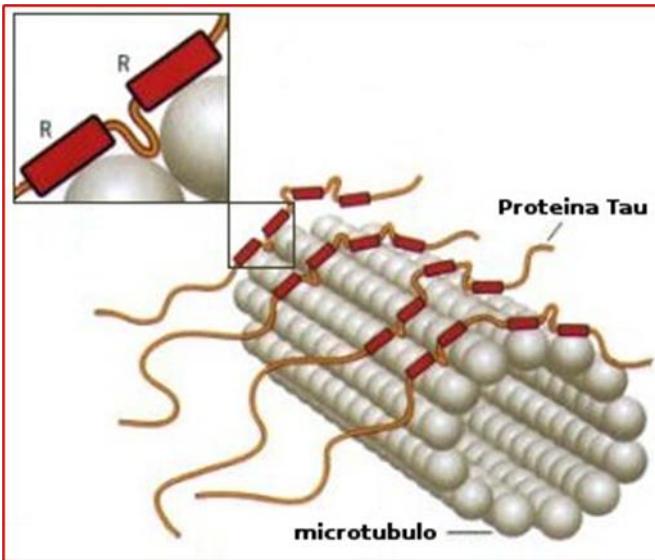


Cells crawl forward when actin at the leading edge elongates, pushing the plasma membrane outward. These actin filaments are anchored to the plasma membrane by binding to integrin complexes and are organized into larger networks called filopodia and lamellipodia. At the rear (trailing) edge of the cell, myosin motor proteins pull on actin filaments connected to the plasma membrane, dragging the rear of the cell forward.

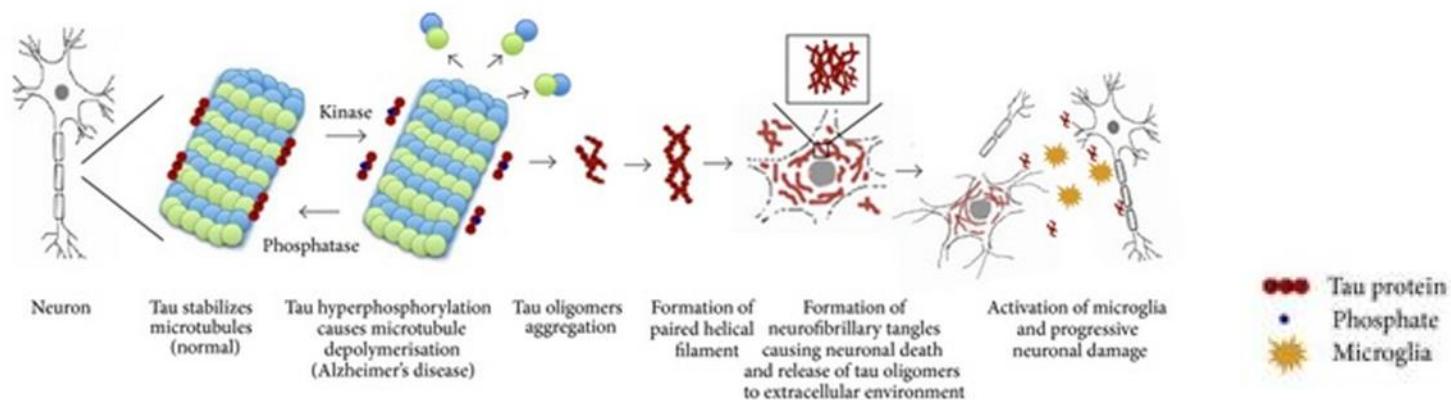
# Envolvimento do citoesqueleto na fagocitose



# Proteína tau e estabilização dos microtúbulos



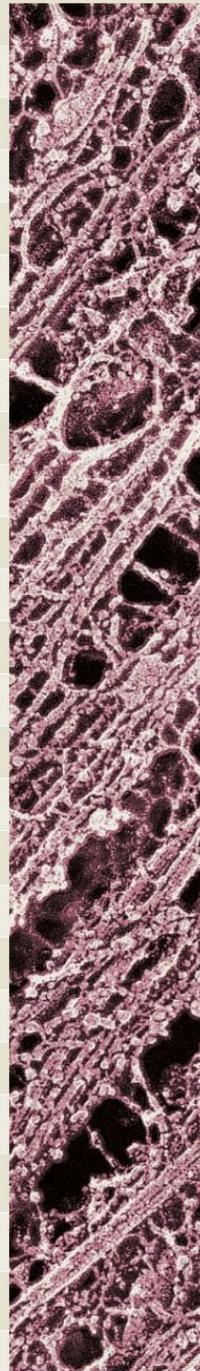
Jason Eriksen



MAP –  
Microtubule  
Associated  
Protein

## MILESTONES TIMELINE

1942	Discovery of actomyosin (1)
1953	Abercrombie's studies of cell migration (2)
1954	Sliding filament model for muscle contraction (3)
1965	Dynein, the first microtubule-dependent motor (4)
1967	Dynamic filaments in the mitotic spindle (5)
1968	Tubulin, the binding partner of colchicine in the mitotic spindle (6)
1968–1978	Identification of intermediate filaments (7)
1972–1977	Actomyosin contractile ring in cytokinesis (8)
1973	Isolation of the first non-conventional myosin (9)
1974	Visualization of actin filaments in non-muscle cells (10)
1978	Analysis of cytoskeletal dynamics with fluorescently labelled probes (11)
1980	Actin-adhesion links to the extracellular matrix (12)
1981–1982	Differential interference contrast microscopy (13)
1984	Microtubule dynamic instability (14)
1985	The microtubule molecular motor kinesin (15)
1989 & 1995	$\gamma$ -Tubulin and microtubule-organizing centres (16)
1989–1996	Single-molecule assays for motor proteins (17)
1990–1993	Structures of actin and myosin (18)
1991	Keratins in health and disease (19)
1992	Rho GTPases as cytoskeletal regulators (20)
1992–1998	Discovery of the bacterial cytoskeleton (21)
1993	Cilia and flagella formation and function (22)
1994–1998	Isolation of the first actin nucleator (23)
1995–1996	Structures of microtubules and kinesin (24)
1999	Reconstruction of a complete motile system <i>in vitro</i> (25)



nature MILESTONES CYTOSKELETON

## Filmes

### Citoesqueleto

Citoesqueleto: <https://www.youtube.com/watch?v=tO-W8mvBa78>

<https://www.youtube.com/watch?v=YTv9ItGd050>

<https://www.youtube.com/watch?v=5DKZiSJeoV4>

### Transporte intracelular: microtúbulos e proteínas motoras

<http://www.youtube.com/watch?v=7sRZy9PgPvg>

<http://www.youtube.com/watch?v=TYxDoP9ABHc>

### Movimento celular

<http://www.youtube.com/watch?v=ZUUfdP87Ssg>

### Fagocitose

<https://www.youtube.com/watch?v=438EovW4tzs>