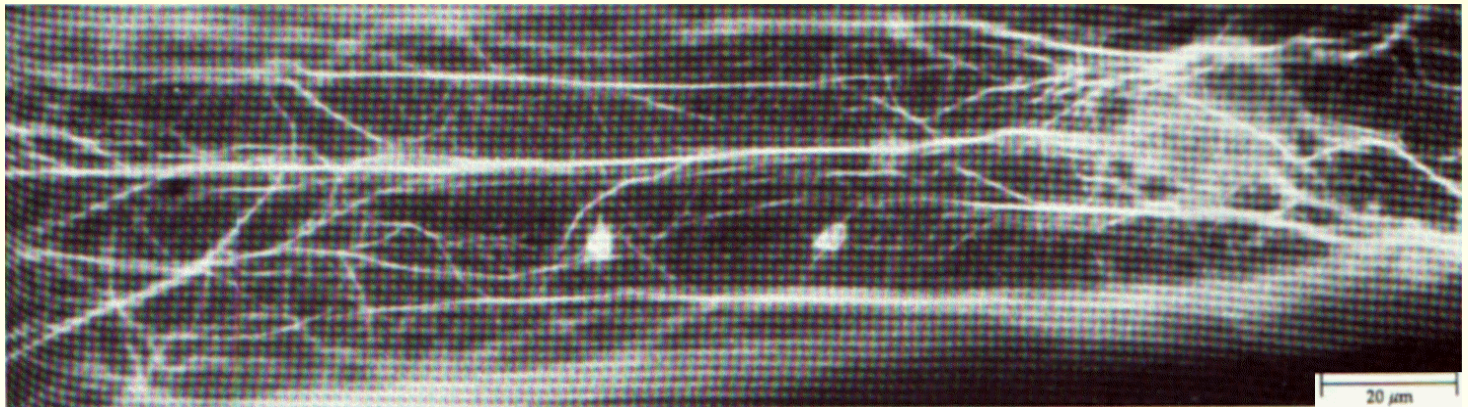
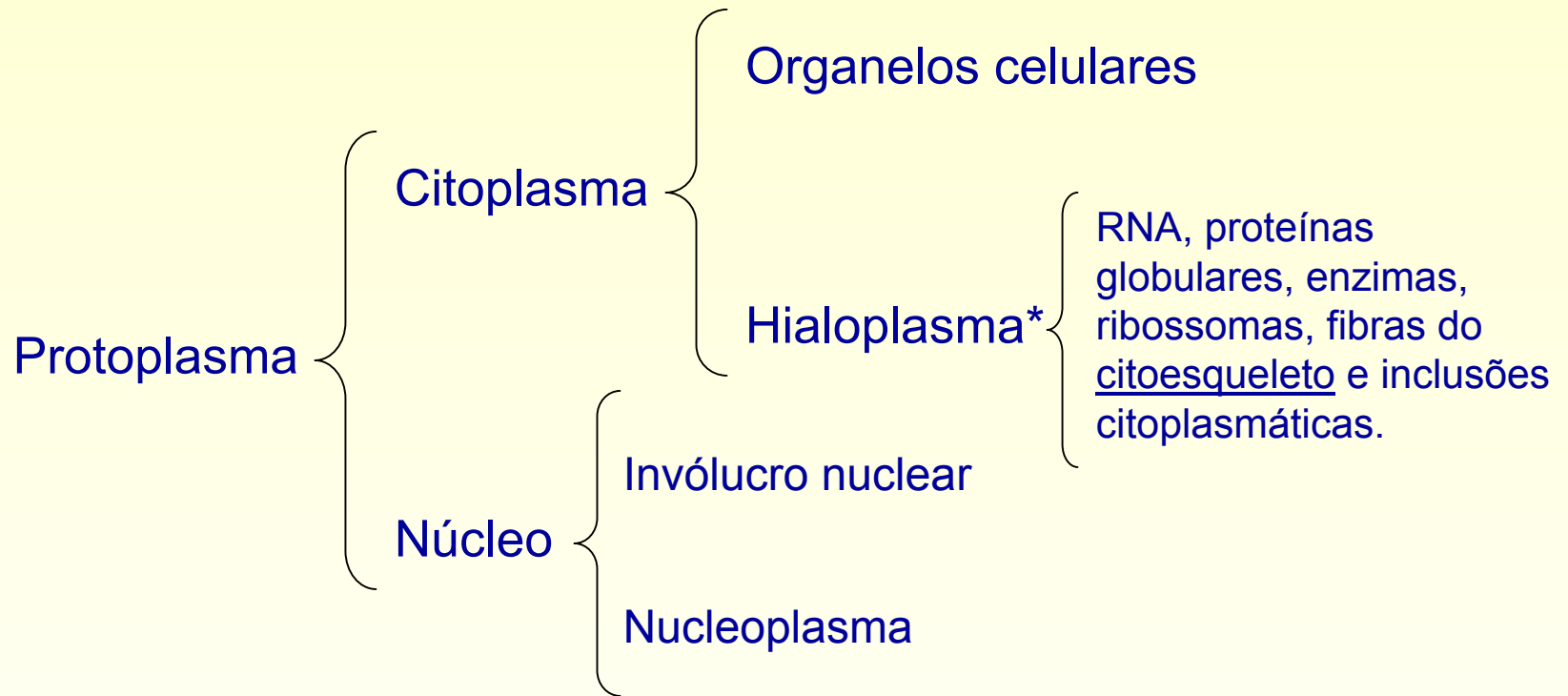


### 3. MATRIZ CITOPLASMÁTICA E CITOESQUELETO



Citoesqueleto, com microscópio de fluorescência (Raven, P.H., R. F. Evert & S. E. Eichhorn. 1992. *Biology of Plants*, 5th ed. Worth Publishers).



\* citosol, citoplasma fundamental ou matriz citoplasmática

**Matriz citoplasmática = citoplasma fundamental = hialoplasma = citosol**

No hialoplasma ocorrem a maioria das reações químicas da célula.

No hialoplasma encontram-se:

RNA, proteínas globulares, enzimas, ribossomas, fibras do citoesqueleto e inclusões citoplasmáticas.

**Inclusões:** acumulações de nutrientes ou subprodutos relativamente inertes do metabolismo celular. Salvo raras exceções, não estão envoltas por membranas.

Ex. grânulos de glicogénio, gotículas de lipídios ou cristais.

**Glicossomas:** estruturas esféricas com  $\pm 30 \text{ }\mu\text{m}$ , formadas por um cerne de polissacarídeos rodeado por enzimas relacionadas com a sua formação e destruição.

Glicogénio sintetase: síntese de glicogénio

Glicogénio fosforilases: decomposição do glicogénio em glucose 1-fosfato.

**Hepatócitos:** acumulam glicogénio; enviam glucose para o sangue mantendo uma concentração constante do monossacarídeo (glicémia).

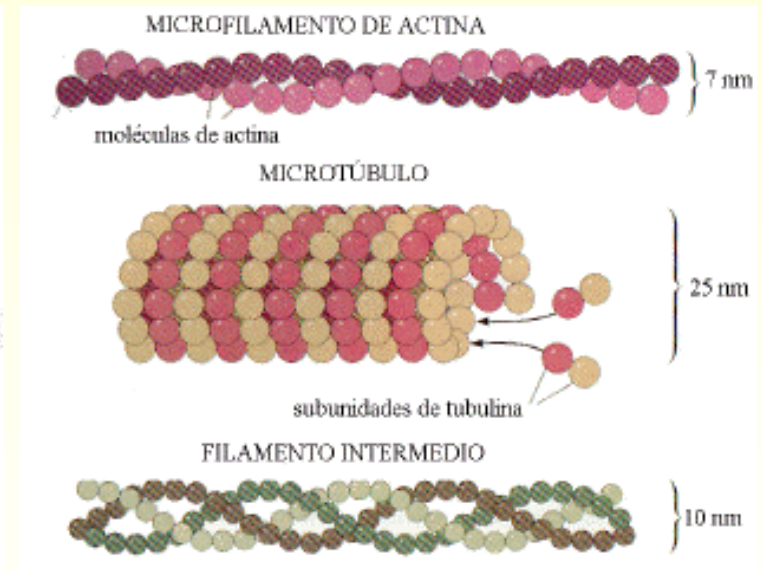
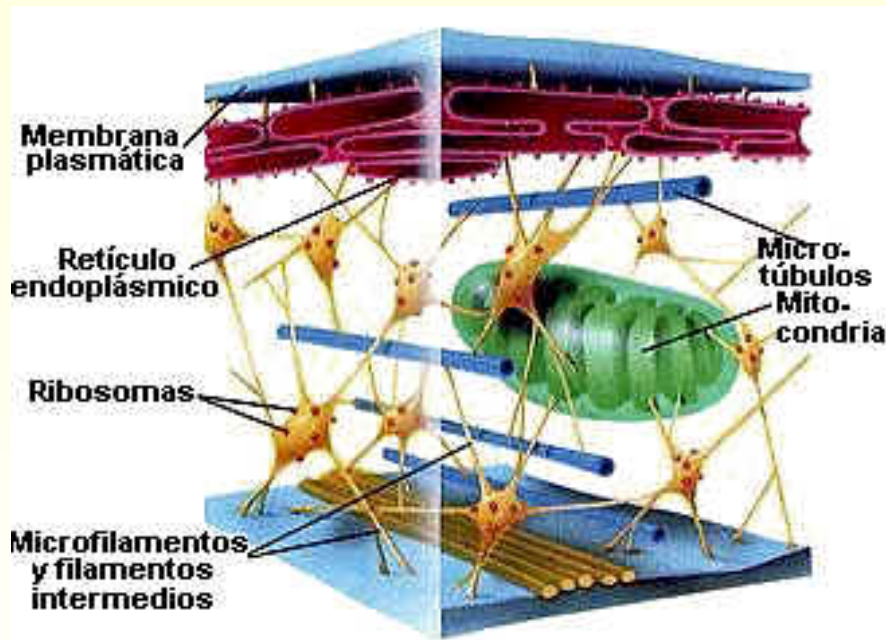
**Inclusões Lipídicas:** gotículas de triglicerídeos

# Citoesqueleto

Conjunto de fibras de natureza proteica, existentes no hialoplasma, responsáveis pela motilidade celular e forma da célula.

## Constituição do citoesqueleto:

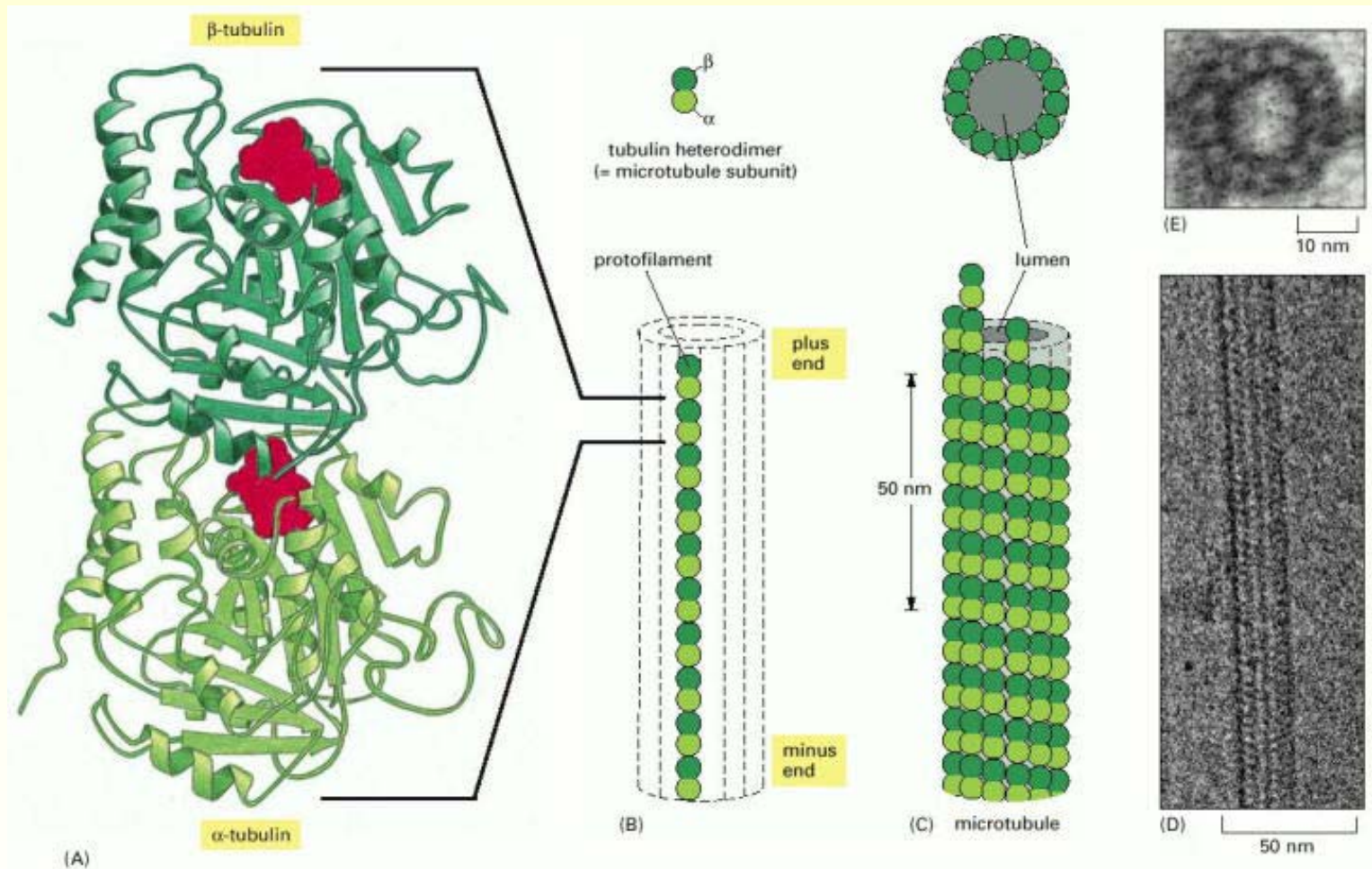
### **Microtúbulos, microfilamentos e filamentos intermédios.**



In: Raven, P.H., R. F. Evert & S. E. Eichhorn. 1992. Biology of Plants, 5th ed. Worth Publishers

# 1. Microtúbulos

O que são microtúbulos?

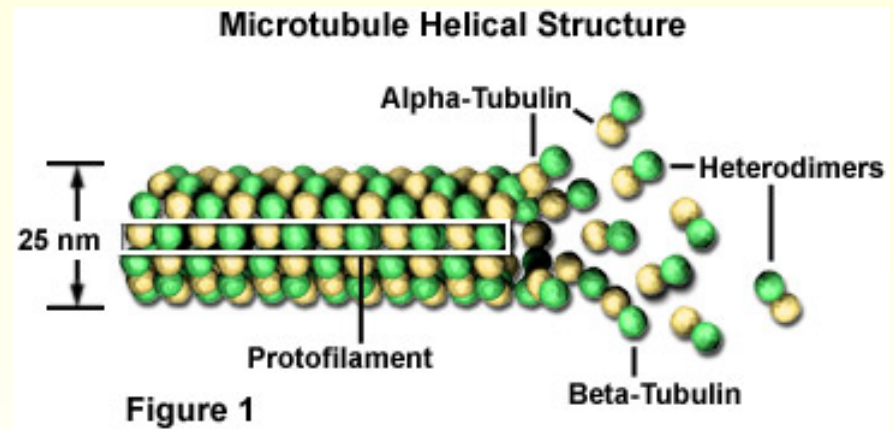


<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/bv.fcgi?rid=mboc4.figgrp.2968>

## Microtúbulos

Os microtúbulos são cilindros ocos de 25 nm de diâmetro e cujo comprimento pode alcançar mais de 20  $\mu\text{m}$ . As paredes são formadas pela agregação de proteínas globulares, com cerca 5 nm de diâmetro, as **tubulinas**. As tubulinas dispõem-se em 13 colunas longitudinais – os **protofilamentos**.

A tubulina é um heterodímero constituído por duas subunidades de 50 kDa, denominadas tubulina  $\alpha$  e tubulina  $\beta$ .



Além das tubulinas (85% do total), os microtúbulos são compostos por proteínas microtubulares associadas – **MAPs**.

Os microtúbulos entram na constituição de várias estruturas:

Centríolos, fuso mitótico, raios astrais de células em divisão, elementos longitudinais dos axónios, cílios e flagelos

Existem contudo diferenças na sua estabilidade:

- Os microtúbulos de cílios e flagelos são muito estáveis;
- Os microtúbulos do fuso mitótico são lábeis e transitórios.

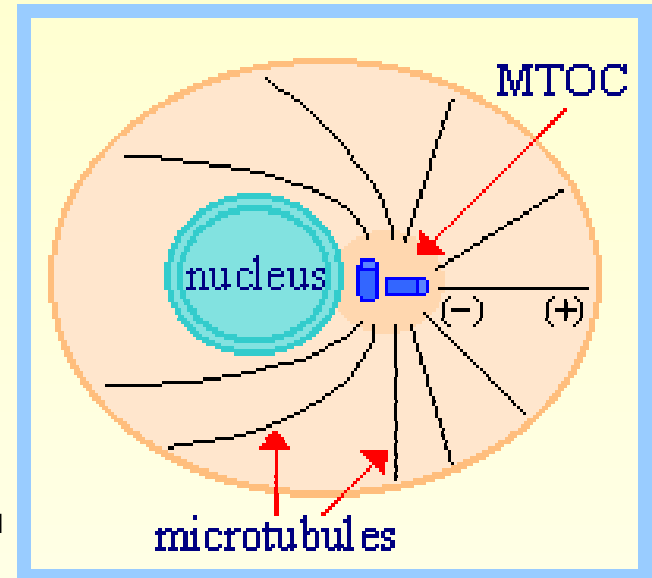
O padrão de distribuição dos microtúbulos oscila ao longo do ciclo celular entre uma rede complexa durante a interfase e uma distribuição restrita ao fuso durante a mitose.

Os microtúbulos apresentam **polaridade**: Extremidades [+] e [-]



Interfase: ocorre a organização dos microtúbulos de modo polarizado. As extremidades (+) apontam para a membrana plasmática (periferia da célula) e as extremidades (-) partem de uma região que as estabiliza (COMT).

<http://academic.brooklyn.cuny.edu/biology/bio4fv/page/cytoskeleton.html>



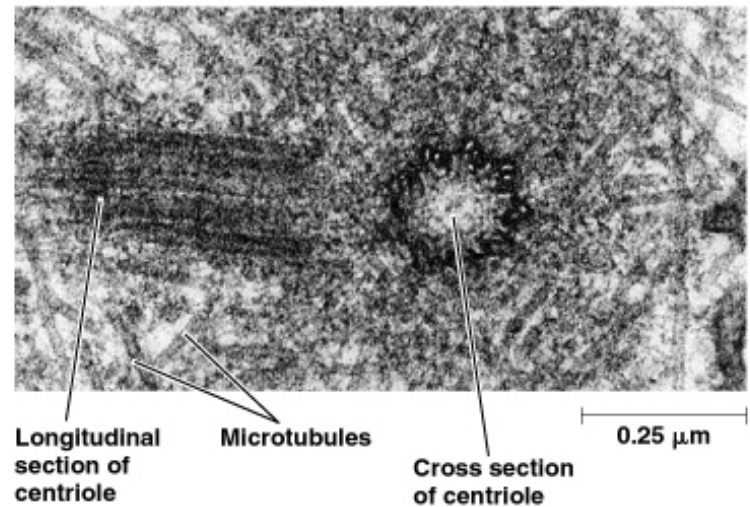
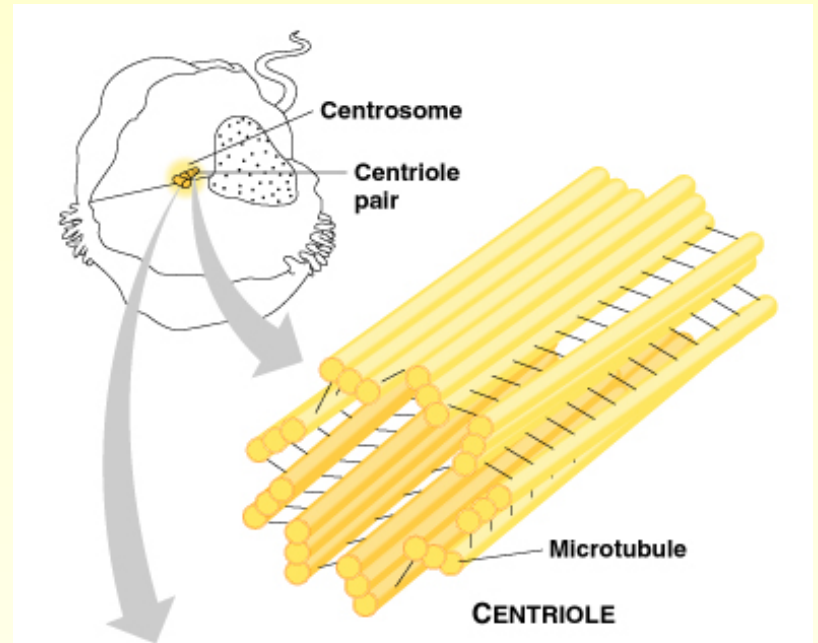
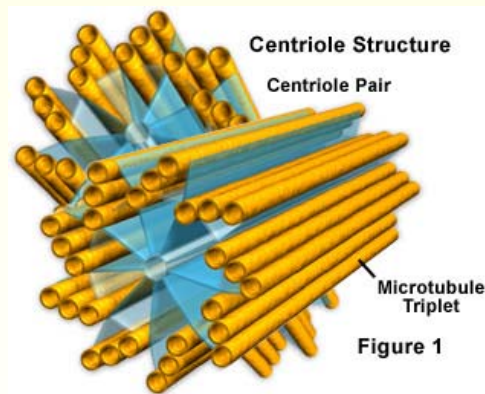
## Centros organizadores de microtúbulos (COMT)

São os locais de nucleação dos microtúbulos a partir da tubulina solúvel – representados fundamentalmente, nas células animais, pelo **centrossoma**.

Nas células animais, o centrossoma corresponde a uma zona do citoplasma que contém um par de **centríolos**.

**Centríolos:** são estruturas cilíndricas, constituídas por 9 triplas de microtúbulos, que geralmente se encontram aos pares.

Dão origem a cílios e flagelos (excepto os das bactérias), estando também relacionados com a formação do fuso acromático.



©1999 Addison Wesley Longman, Inc.

<http://sciencentral.us/chpt7.html>

A dinâmica da polimerização depende da concentração de heterodímeros mas não só:

Inibição por: baixas temperaturas e iões  $\text{Ca}^{2+}$

Favorecida pela: presença de GTP, GDP e iões  $\text{Mg}^{2+}$ .

Algumas substâncias químicas interferem na polimerização ou despolimerização dos heterodímeros de tubulina:

Ex. 1. **Colquicina (colchicina)** – despolimerização do fuso mitótico.  
**Vinblastina e vincristina** – agentes antimitóticos utilizados no tratamento antitumoral.

Ex. 2. **Taxol** – impede a despolimerização dos microtúbulos, interferindo na separação dos cromossomas na mitose. Utilizado no tratamento antineoplásico.

### **MAPs (5-15% do conteúdo proteico dos microtúbulos)**

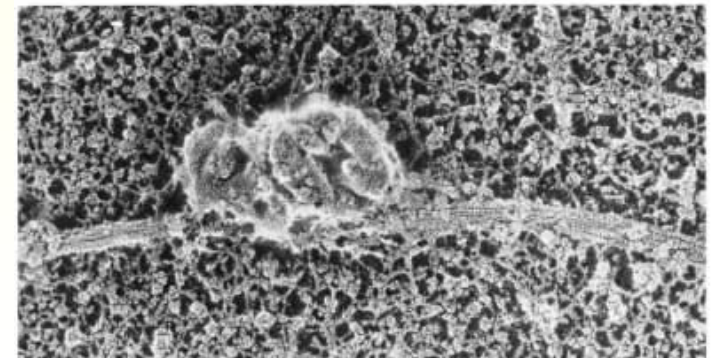
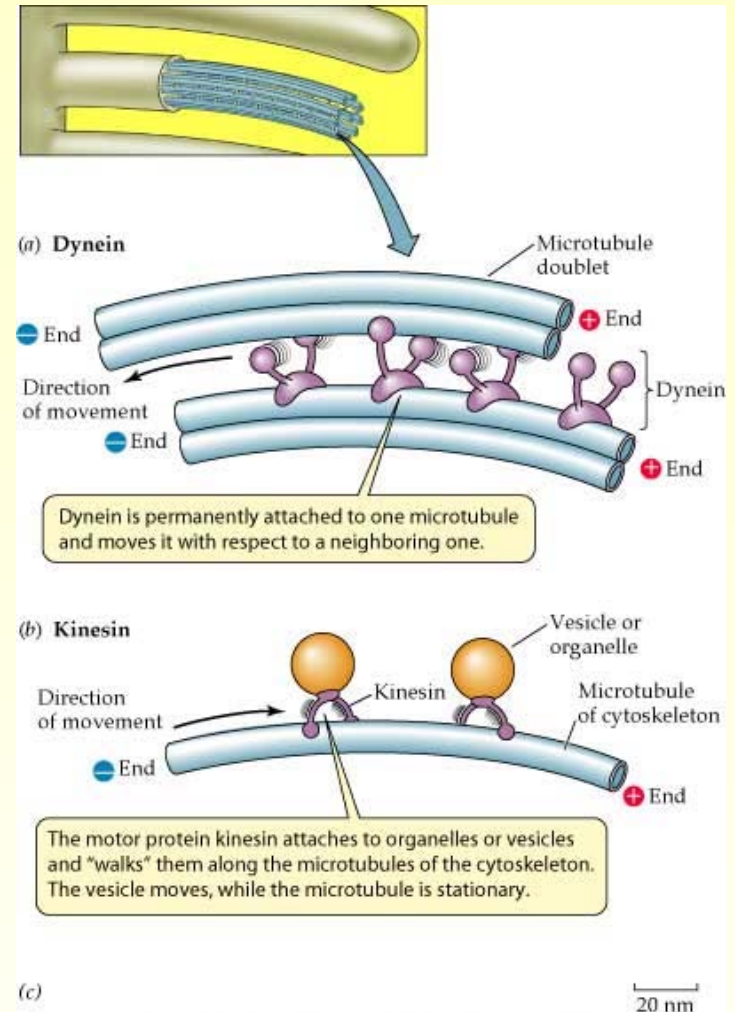
- Papel estrutural
- **Proteínas motoras (motores moleculares)**: promoção do transporte ao longo dos microtúbulos.

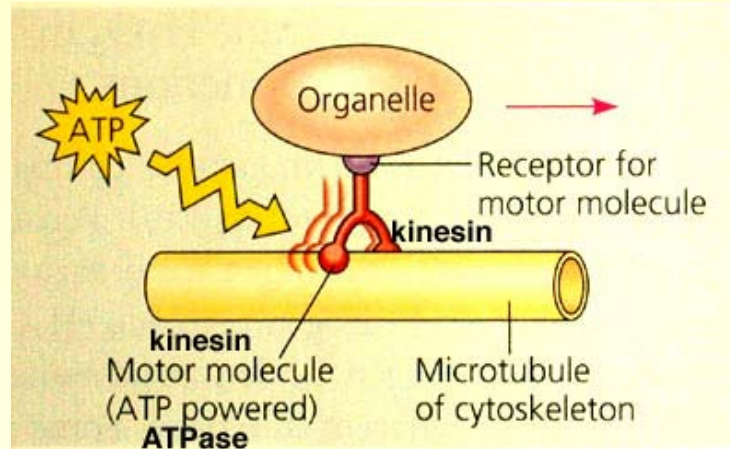
Os Microtúbulos estão envolvidos no Transporte de macromoléculas e de organelos na célula.

As **proteínas motoras** transportam vesículas e organelos sobre a superfície dos microtúbulos:

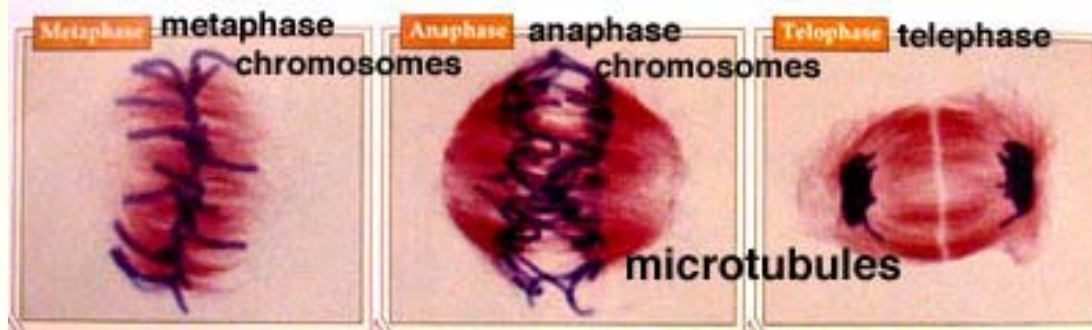
- i) **Cinesinas**: possibilitam o movimento em direcção à extremidade (+)
- ii) **Dineínas citoplasmáticas**: possibilitam o movimento em direcção à extremidade (-)
- iii) **Dineína ciliar e flagelar**

<http://bcs.whfreeman.com/thelifewire/default.asp?s=&n=&i=&v=&o=&ns=0&uid=0&rau=0>





A produção de força motriz também se pode basear na despolimerização de microtúbulos, nomeadamente para a deslocação dos cromossomas durante a anafase.



## Funções dos microtúbulos citoplasmáticos

### • Transporte intracelular

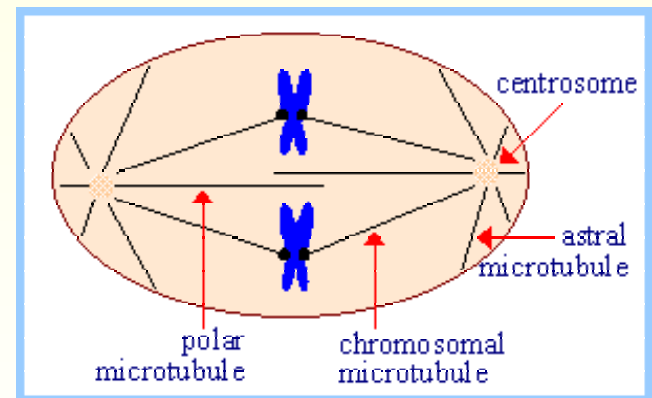
Os microtúbulos possuem associadas proteínas que realizam o transporte de diversas estruturas. Nos axónios os microtúbulos são responsáveis pelo fluxo axónico rápido.

### • Morfogénese

A orientação e distribuição dos microtúbulos está relacionada com a aquisição de forma durante a diferenciação celular.

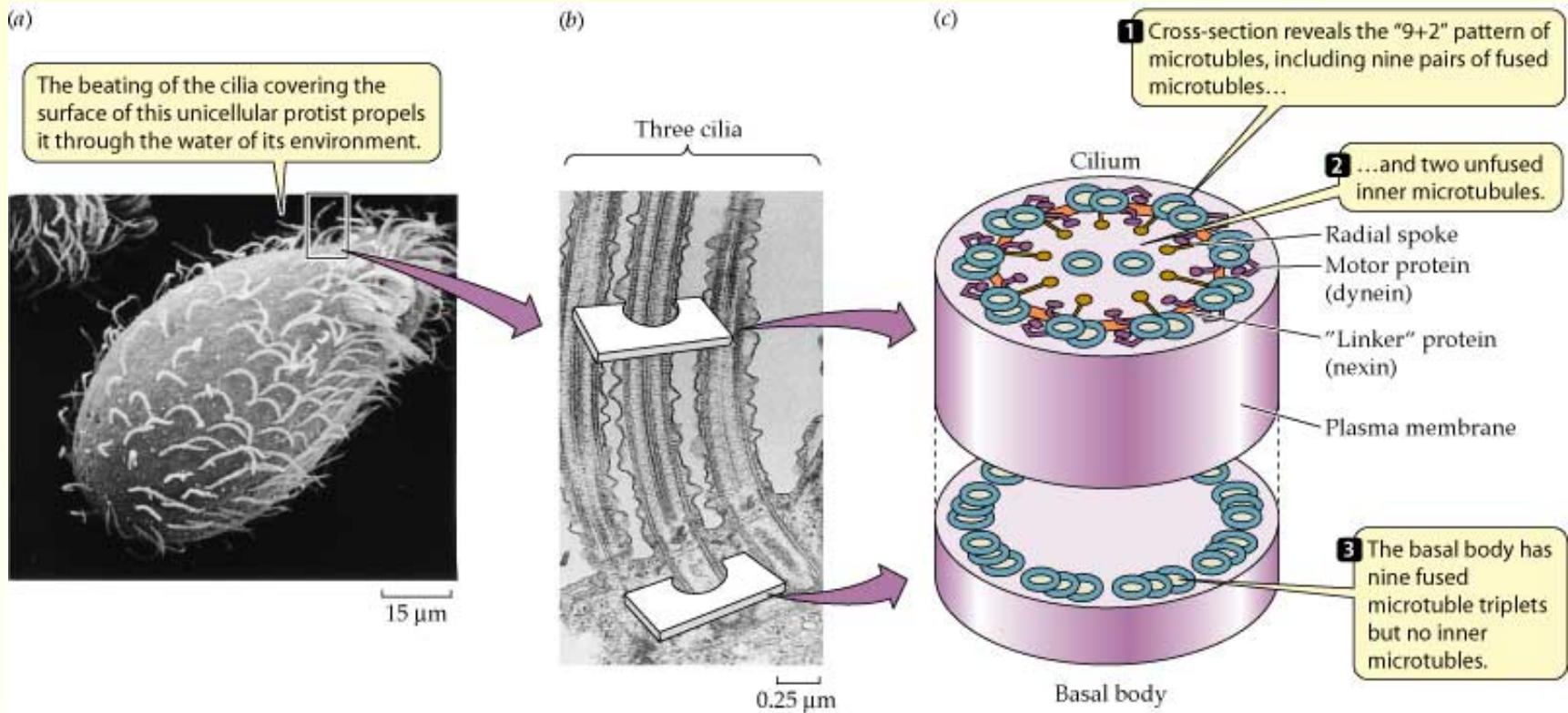
### • Construção do fuso mitótico

As fibras do fuso são constituídas por microtúbulos (livres e cinetocoriais). A separação de cromátídeos está relacionada com a despolimerização dos microtúbulos.



• **Motilidade**

A estrutura fundamental dos cílios e flagelos é dada por uma disposição ordenada de microtúbulos denominada **axonema**.



<http://bcs.whfreeman.com/thelifewire/default.asp?s=&n=&i=&v=&o=&ns=0&uid=0&rau=0>

O axonema contém um padrão microtubular duplo de 9+2.

O comprimento do axonema é de vários micrómetros nos cílios, podendo chegar a mais de 1 mm em certos flagelos. O seu diâmetro é de apenas 0,2  $\mu\text{m}$ .

O axonema é cercado pela membrana ciliar externa que é uma dependência da membrana plasmática com a qual tem continuação.

No movimento ciliar, o deslizamento de pares de micrótubulos deve-se à acção da **dineína**.



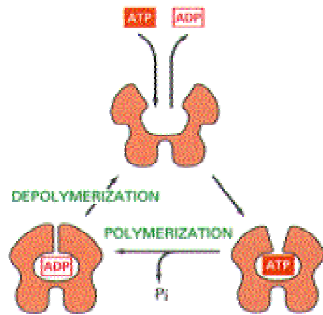
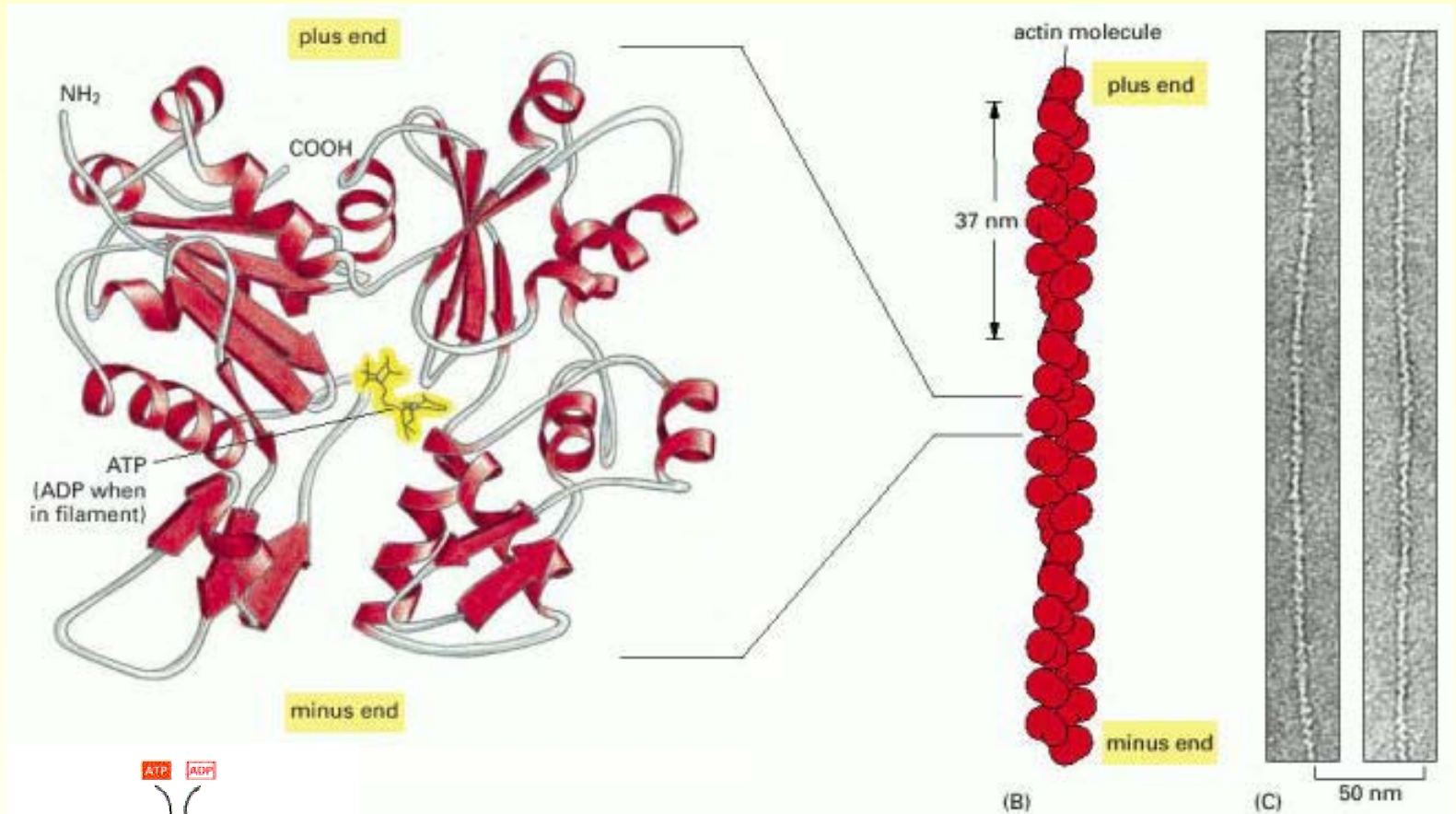
## 2. Microfilamentos – filamentos de actina

Estruturas filamentosas de 5-7  $\eta\text{m}$  de diâmetro que se observam nas células eucariotas sob a forma de feixes de filamentos paralelos ou de redes de filamentos anastomosados.

São constituídos pela polimerização da proteína monomérica globular **actina G**, uma proteína abundante em células eucariotas, originando filamentos de **actina F**.

Tem-se admitido que os microfilamentos sejam constituídos por duas cadeias de actina F enroladas helicoidalmente.

Contudo, alguns trabalhos com reconstrução de imagem e simulação em computador apontam como modelo mais provável, o de um único filamento helicoidal formado por uma cadeia simples de monómeros (Plancha e David-Fereira, *In* Azevedo, 2005, Biologia Celular e Molecular, Lidel).



© 2002 by Bruce Alberts, Alexander Johnson, Julian Lewis, Martin Raff, Keith Roberts, and Peter Walter.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/bv.fcgi?rid=mboc4.figgrp.2969>

Os filamentos de actina, tal como os microtúbulos, são **estruturas polarizadas**. Os filamentos de actina F crescem por adição de monómeros a uma das extremidades, ligação que ocorre a maior velocidade na extremidade em que a actina G está associada a uma molécula de **ATP (pólo de crescimento)**.

Na interfase, os microfilamentos localizam-se preferencialmente na **região cortical** das células, de **forma adjacente à membrana plasmática**.

Os microfilamentos são nucleados na região adjacente à membrana plasmática.

Os microfilamentos podem interagir com outras estruturas e adquirir diferentes propriedades através de várias moléculas genericamente denominadas de **proteínas de ligação à actina** (*actin binding proteins*).

As proteínas de ligação à actina apresentam enorme diversidade, podendo:

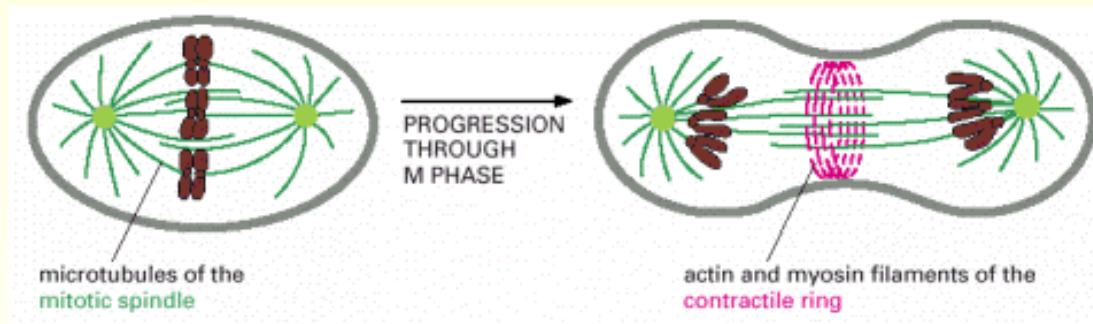
- i) Interferir com a dinâmica de polimerização e despolimerização;
- ii) Promover ligações entre diferentes microfilamentos influenciando a sua estabilidade estrutural (fimbrina, fodrina, filamina e actina  $\alpha$ );
- iii) Mediar a interacção dos microfilamentos com membranas celulares - **integrinas e caderinas**;
- iv) Funcionar como **motores**, família das **miosinas**.

As proteínas associadas que participam na regulação da dinâmica de polimerização dos microfilamentos actuam por vários mecanismos:

- i) Por sequestração dos monómeros de actina G, limitando a sua polimerização (ex. profilina);
- ii) Por ligação a uma das extremidades dos filamentos de actina F, impedindo o seu crescimento ou dissociação (ex. *capping proteins*, gelsolina, vilina, actinina  $\alpha$ );
- iii) Por associação lateral a segmentos dos filamentos, impedindo a sua fragmentação (ex. tropomiosinas).

## Funções dos microfilamentos

- **Localização (suporte mecânico) de estruturas celulares**
- **Movimentação intracitoplasmática de organelos ou vesículas**
- **Fagocitose**
- **Citocinese – anel contráctil**

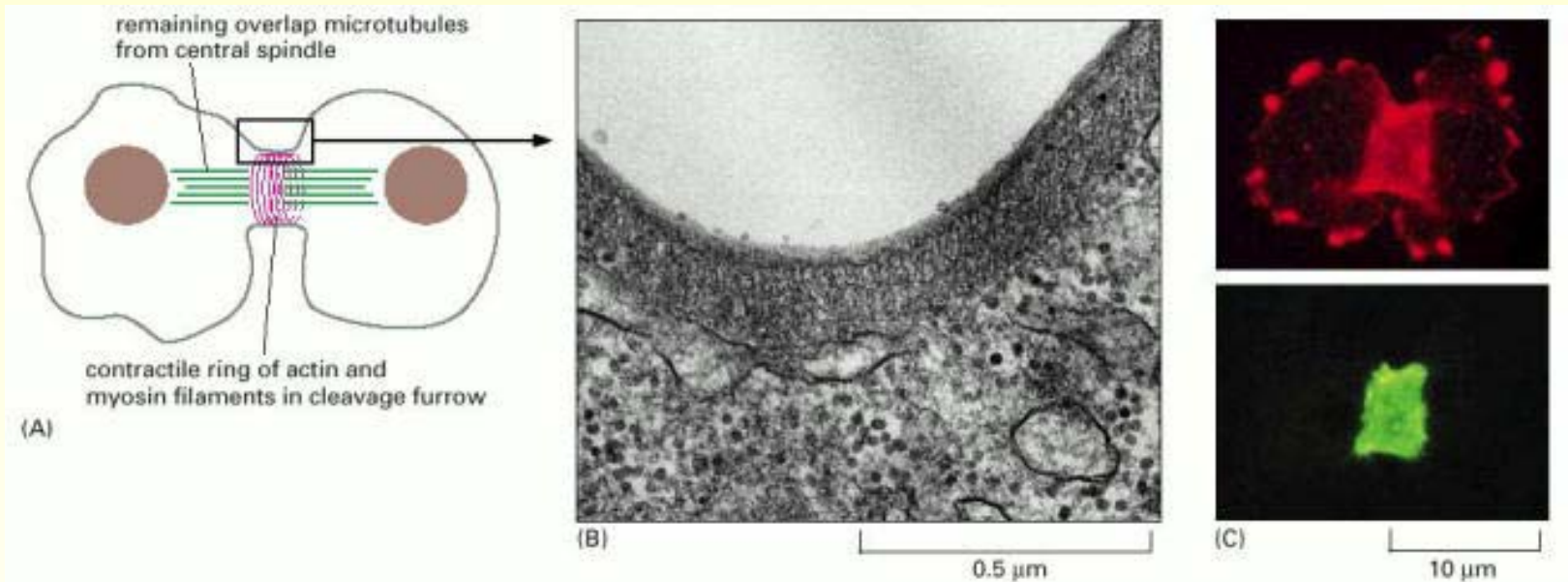


Anel contráctil de actina e miosina

- **Locomoção celular**

Formação de pseudópodos.

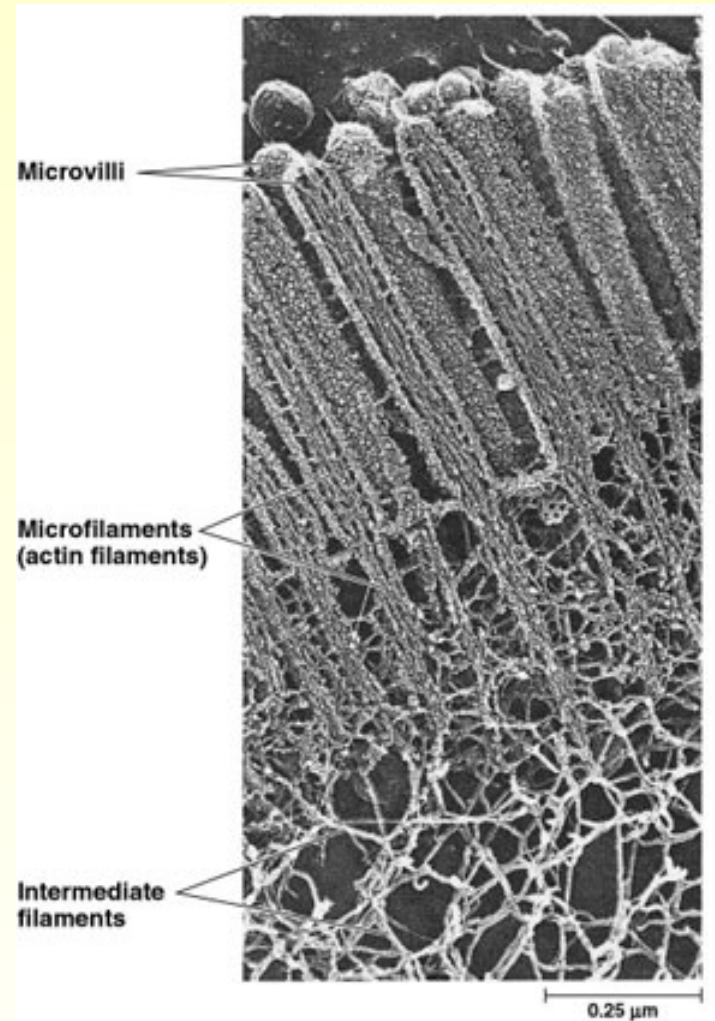
A citocinese ocorre com a formação do anel contráctil de actina e miosina.



<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/bv.fcgi?rid=mboc4.figgrp.3389>

Na fig. C o anel contráctil é detectado por técnicas de imunoflorescência. O anel de actina está representado a vermelho e o anel de miosina a verde.

Nas diferenciações permanentes da superfície celular, como as microvilosidades das células intestinais e os estereocílios das células auditivas, os filamentos de actina F são compactos e têm orientação muito regular.

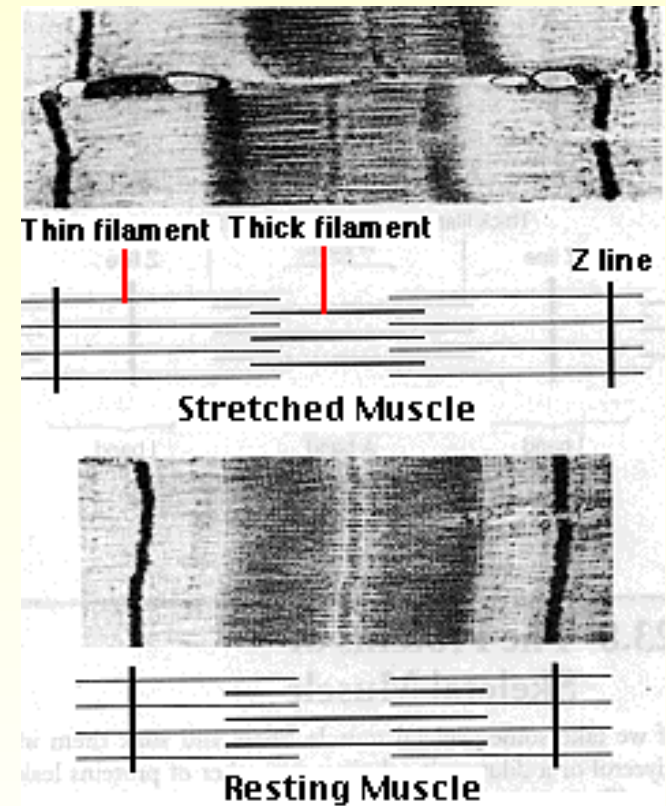
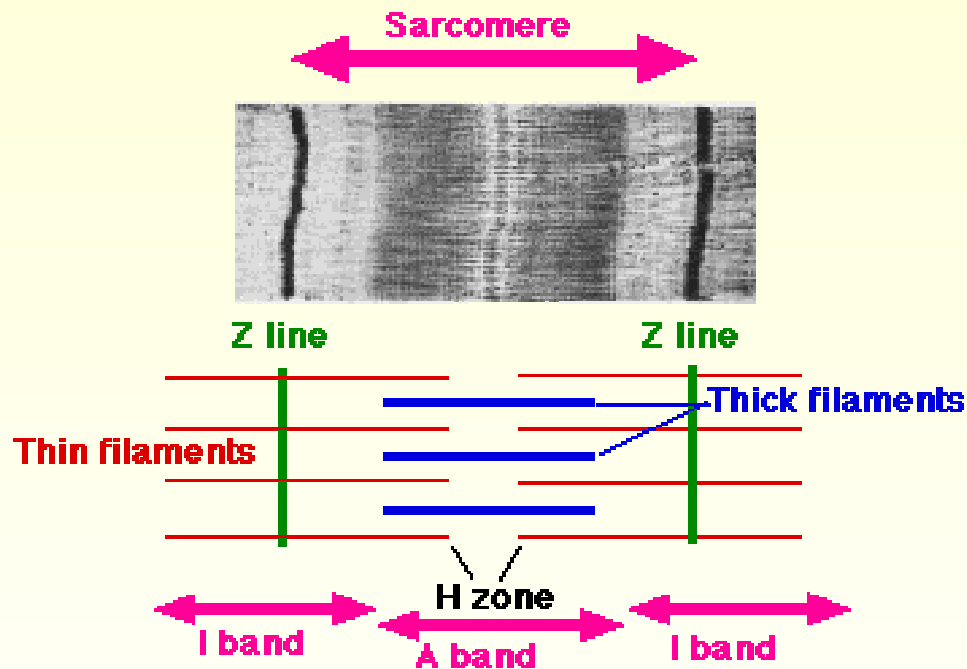


<http://fig.cox.miami.edu/~cmallery/150/cells/organelle.htm>



## • Contração muscular

A contração muscular deve-se ao deslizamento de filamentos de actina (filamentos finos) sobre filamentos de miosina (filamentos grossos).

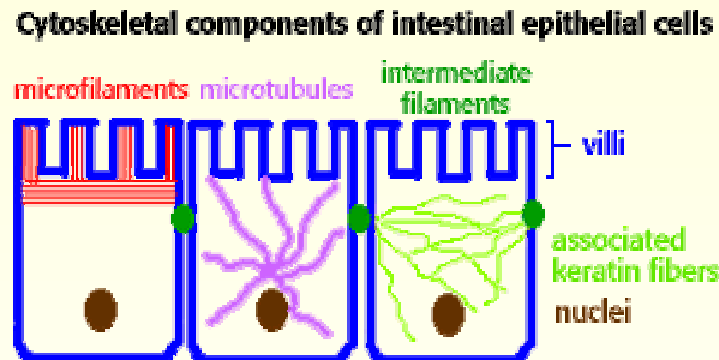


<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/bv.fcgi?call=bv.View..ShowTOC&rid=mboc4.TOC&depth=10>

### 3. Filamentos intermédios

Classe de filamentos com diâmetro de 10 nm, intermédio entre os microtúbulos (25 nm) e os microfilamentos (5-7 nm).

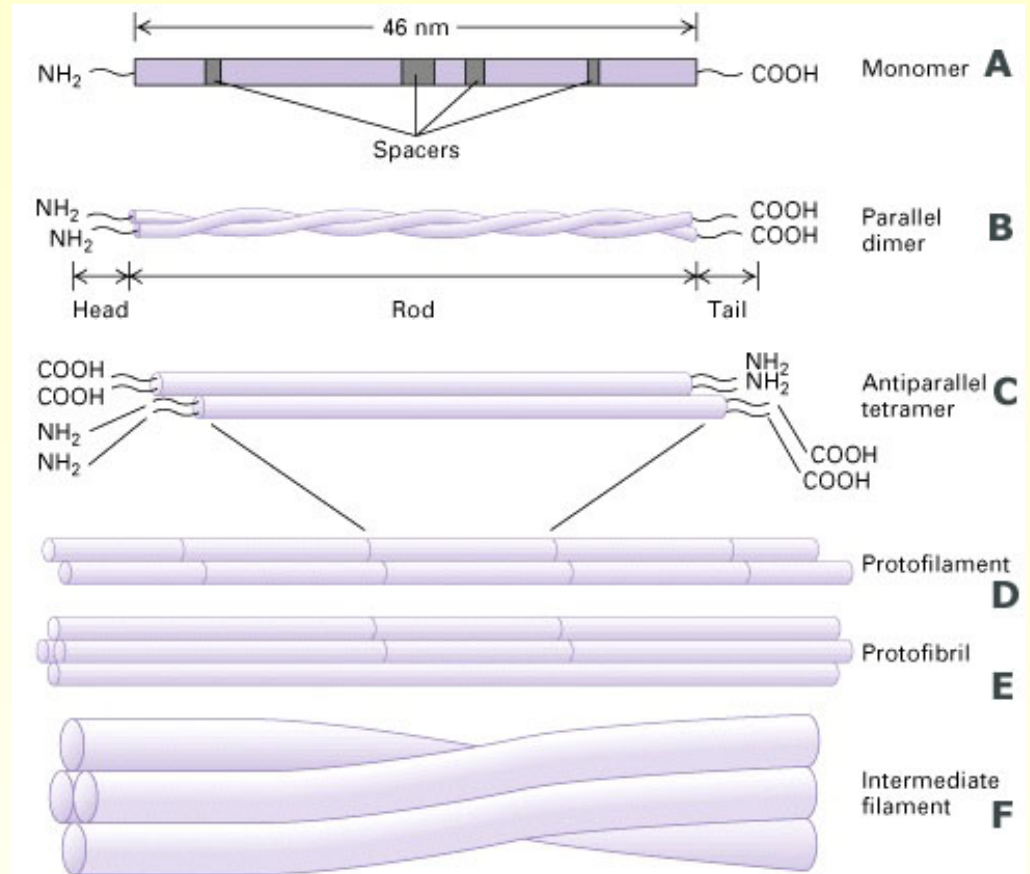
Formam uma rede perinuclear que se estende até à membrana plasmática.



As proteínas dos filamentos intermédios apresentam um domínio central em hélice  $\alpha$ , com 310 a 350 aminoácidos, e duas porções globulares em ambas as extremidades de dimensões e sequência variáveis.

A organização dos filamentos intermédios começa com a constituição de dímeros proteicos que se agregam em complexos de 4 cadeias (tetrâmeros).

Os tetrâmeros constituem depois protofilamentos de 2 a 3 nm. Quatro protofilamentos, enrolados helicoidalmente, originam protofibrilas de 4 a 5 nm.



Da associação de 4 protofibrilas resulta o filamento de 10 nm.

<http://www.biology.iupui.edu/biocourses/Biol540H/EBRoberts.html>

## Tipos de proteínas constituintes dos filamentos intermédios:

- 1) Citoqueratinas ácidas;
- 2) Citoqueratinas básicas-neutras;
- 3) Vimentina, desmina, proteína ácida fibrilar glial e periferina;
- 4) As três proteínas dos neurofilamentos, a nestina e a  $\alpha$ -internexina;
- 5) As laminas nucleares.

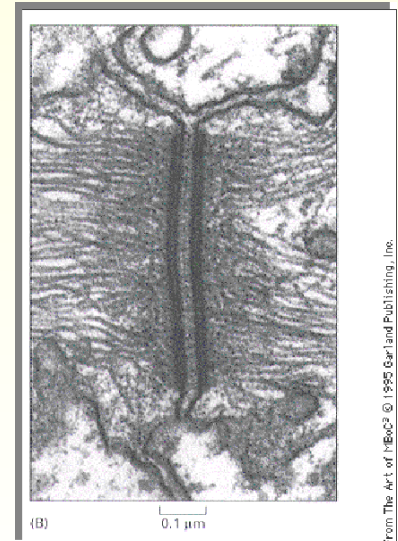
As citoqueratinas apresentam a maior diversidade entre todas as proteínas dos filamentos intermédios e constituem os filamentos intermédios das células epiteliais.

Ao contrário dos microtúbulos e microfilamentos, os filamentos intermédios parecem não apresentar polaridade.

## Funções dos filamentos intermédios

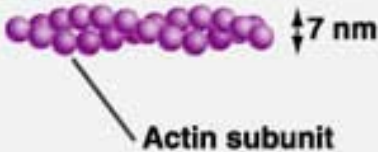


- Estabilidade mecânica das células e tecidos no seu ambiente natural de organização multicelular tridimensional.
- Estabilidade estrutural, ancoragem e posicionamento do núcleo (lâminas nucleares).
- Associação entre filamentos intermédios e desmossomas contribui para a arquitectura e estabilidade estrutural das células e tecidos.

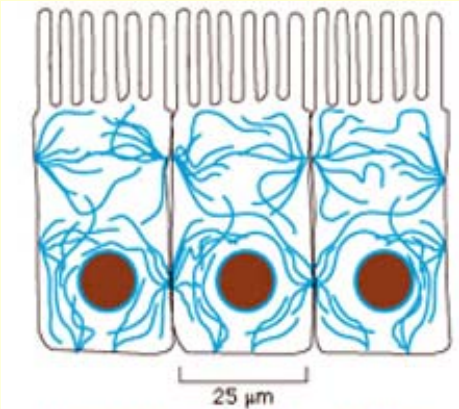
[http://www.cytochemistry.net/Cell-biology/intermediate\\_filaments.htm](http://www.cytochemistry.net/Cell-biology/intermediate_filaments.htm)



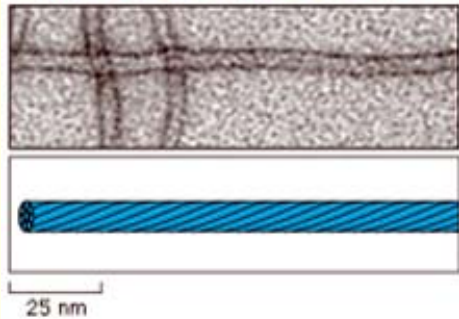
- A associação entre filamentos intermédios e hemidesmosomas\* contribui para a resistência a tracções e estabilidade estrutural da ligação entre o tecido epitelial e o mesênquima subjacente.

\* Junções mediadas por integrinas que estabelecem a adesão celular à lâmina basal em epitélios estratificados e em certos epitélios simples.

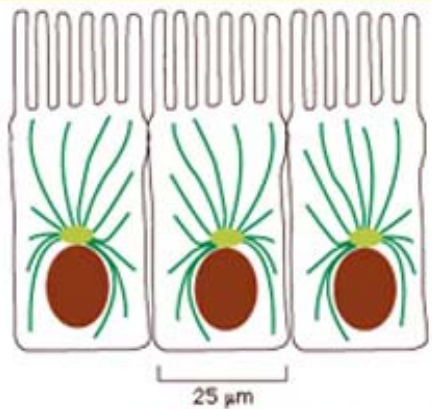
	Microfilaments	Intermediate filaments	Microtubules
<b>Protein subunits</b>	Actin	Keratin, vimentin, lamin, others	$\alpha$ -tubulin and $\beta$ -tubulin dimers
<b>Structure</b>	Two intertwined strands	Fibers wound into thicker cables	Hollow tube
	 <p>7 nm</p> <p>Actin subunit</p>	 <p>10 nm</p> <p>Keratin subunits</p>	 <p>25 nm</p> <p>Tubulin dimer</p>
<b>Functions</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• maintain cell shape by resisting tension (pull)</li> <li>• motility via pseudopodia</li> <li>• muscle contraction</li> <li>• cell division in animals</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• maintain cell shape by resisting tension (pull)</li> <li>• anchor nucleus and some other organelles</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• maintain cell shape by resisting compression (push)</li> <li>• motility via flagella or cilia</li> <li>• move chromosomes during cell division</li> <li>• move organelles</li> </ul>



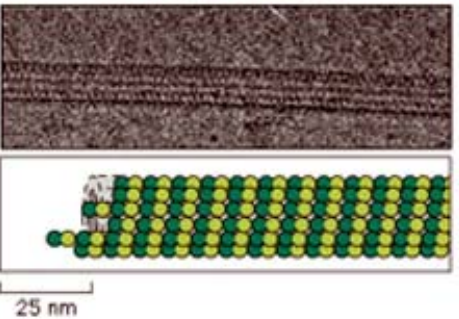
INTERMEDIATE FILAMENTS



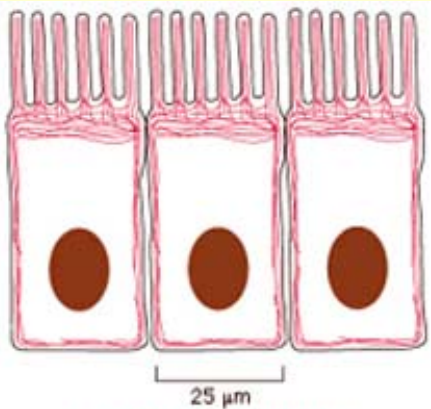
**Intermediate filaments** are ropelike fibers with a diameter of about 10 nm; they are made of intermediate filament proteins, which constitute a large and heterogeneous family. One type of intermediate filament forms a meshwork called the nuclear lamina just beneath the inner nuclear membrane. Other types extend across the cytoplasm, giving cells mechanical strength and carrying the mechanical stresses in an epithelial tissue by spanning the cytoplasm from one cell-cell junction to another. (Micrograph courtesy of Roy Quinlan.)



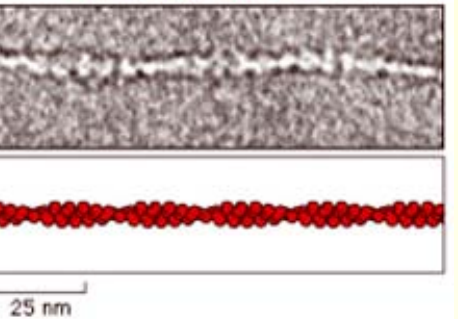
MICROTUBULES



**Microtubules** are long, hollow cylinders made of the protein tubulin. With an outer diameter of 25 nm, they are more rigid than actin filaments or intermediate filaments. Microtubules are long and straight and typically have one end attached to a single microtubule-organizing center called a *centrosome*, as shown here. (Micrograph courtesy of Richard Wade.)



ACTIN FILAMENTS



**Actin filaments** (also known as *microfilaments*) are helical polymers of the protein actin. They appear as flexible structures, with a diameter of about 7 nm, that are organized into a variety of linear bundles, two-dimensional networks, and three-dimensional gels. Although actin filaments are dispersed throughout the cell, they are most highly concentrated in the *cortex*, just beneath the plasma membrane. (Micrograph courtesy of Roger Craig.)